REVISTA BRASILEIRA DE BIOLOGIA

VOLUME 21 JUNHO, 1961 NÚMERO 1

FUNÇÕES DIFERENTES TOMADAS PELA GLÂNDULA MANDIBULAR NA EVOLUÇÃO DAS ABELHAS EM GERAL E EM "TRIGONA (OXYTRIGONA) TATAIRA" EM ESPECIAL [1]

WARWICK E. KERR e CARMINDA DA COSTA CRUZ
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras,
Rio Claro, São Paulo

(Com 10 figuras no texto)

É comum encontrarmos na evolução de um determinado órgão um grande número de funções assumidas pelo mesmo.

Assim, o ovipositor das vespas primitivas evolui e acumula a função de defesa nas abelhas. As patas adaptam-se em certos insetos às funções escavadoras, saltadoras, nadadoras, preensoras, etc.

Um belo exemplo de multiplicidade de funções de um mesmo órgão é o encontrado entre diferentes espécies de abelhas no que concerne às funções assumidas pelas glândulas mandibulares para secretar substâncias inibidoras de rainhas paralizadoras do desenvolvimento ovariano em operárias, para atração de abelhas fêmeas para a cópula, para atração de operárias para coleta de alimento (comunicação), para dissolver cêra, e nesta publicação relatamos mais uma função: como órgão de defesa na espécie *Trigona (Oxytrigona) tataira* F. Smith.

Agradecimentos — Agradecemos ao Sr. Diamantino da Cruz por nos ter enviado uma colméia de *Trigona (Oxytrigona) tataira flaveola*, proveniente da Fazenda Santo Antônio do Madeiral, município de Presidente Epitácio.

Somos agradecidos ao Pe. Dr. J. Oscar Nedel, por nos ter enviado o manuscrito da sua tese de doutoramento, inclusive com os desenhos e fotografias, que acaba de ser entregue à publicação.

Por nos terem feito os desenhos constantes dêste trabalho somos gratos a Srt.ª Edna Regina Thomazini pelas figuras 1, 2, 3, 7, 9 e 10, e ao Sr. João M. Camargo pelas figuras 4, 5, 6 e 8.

---

[1] Recebido para publicação a 6 de dezembro de 1960.
Trabalho realizado com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

ANATOMIA E HISTOLOGIA DAS GLÂNDULAS MANDIBULARES

Segundo BORDAS (1895) as glândulas mandibulares aparecem em todos os himenópteros. Essas glândulas apresentam localização, morfologia e histologia muito semelhantes nas diferentes famílias.

Nos Bombídeos (mamangavas), BORDAS (o.c.) descreve-as como glândulas saculares ovóides, afinadas nas duas extremidades e colocadas na frente do nervo ótico e das glândulas supracerebrais. Segundo BORDAS histològicamente essas glândulas são constituídas de: 1) uma membrana basilar externa, muito fina e transparente; 2) uma camada de células epiteliais secretoras, intermediária; 3) um revestimento interno quitinoso, muito fino. As células secretoras são cúbicas, cada uma provida de um grande núcleo com numerosos nucléolos. O citoplasma é granuloso e provido de um canalículo excretor. Estas células localizam-se limitando um reservatório interno que se continua por um canal deferente. As células secretoras, como foram descritas, ocupam apenas os 2/3 posteriores da glândula. A membrana íntima, quitinosa, reveste também o canal deferente e é muito plissada, sendo atravessada em vários pontos pelos canalículos celulares que se abrem no lumem da glândula. Essa glândula varia em desenvolvimento e forma conforme o sexo da mamangava, sendo maior na fêmea e no macho e menor nas operárias (BORDAS, o.c.).

BORDAS estudou exaustivamente essas glândulas nos Apinae e encontrou sempre esta mesma organização, com pequenas variações. Em *Cilissa* (atual família Andrenidae, Apoidea), as glândulas são extremamente volumosas e as células glandulares formam um epitélio pseudo-estratificado. As células apresentam as bases alargadas e os ápices afilados, filiformes, dispondo-se ao redor do reservatório, com a parte afilada ora para o interior, ora para o exterior, e assim sucessivamente. As células ficam portanto dispostas em uma só camada achando-se os núcleos alternadamente, próximos ou distantes do lumem da glândula. O citoplasma destas células é granuloso e desprovido de vacúolos. O núcleo é muito irregular; esférico, ovóide, alongado linear e provido de muitos nucléolos, está sempre aplicado à base da célula. Em *Nomada solidagines* (Nulectidae) a membrana basilar é provida de fibrilas musculares longitudinais, e as células acham-se reunidas em tôrno de um canal central. Em *Tenthredo pallicornis* (Tenthredinidae) essas glândulas apresentam-se bífidas.

NEDEL (1960), trabalhando com *Trigona* (*Scaptotrigona*) *postica*, encontrou para as glândulas mandibulares uma morfologia e histologia muito semelhante à descrita por BORDAS. As glândulas de *Trigona* (*Scaptotrigona*) *postica* são bífidas e apresentam células glandulares epiteliais do tipo que BORDAS descreve para *Bombus*. Parece apenas que o canalículo excretor de cada célula é muito mais desenvolvido e enrolado dentro da célula. Êsses canalículos teriam origem, segundo NEDEL, de uma segunda camada de células epiteliais internas que desaparece no adulto, deixando no entanto ao redor do canalículo restos do núcleo da célula originária.

Pudemos verificar em alguns espécimens (*Bombus, Melipona*) por nós dissecados que a glândula mandibular possui sempre uma parte secretora provida de células com canalículos intracelulares e um reservatório, constituído por um saco de paredes muito finas. O reservatório é sempre bastante grande em relação à parte secretora, exceto nas trígonas, onde esta equipara-se àquele em tamanho, chegando a ultrapassá-lo em *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira*. Êste reservatório localiza-se, sempre, sob o lobo ótico do cérebro, entre a musculatura da mandíbula.

A GLÂNDULA MANDIBULAR DE TRIGONA (OXYTRIGONA) TATAIRA

A glândula mandibular das operárias de *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira flaveola* Friese, como pudemos verificar das várias dissecações que fizemos, apresenta-se muito desenvolvida e bífida, isto é, em forma de um saco bipartido (fig. 1).

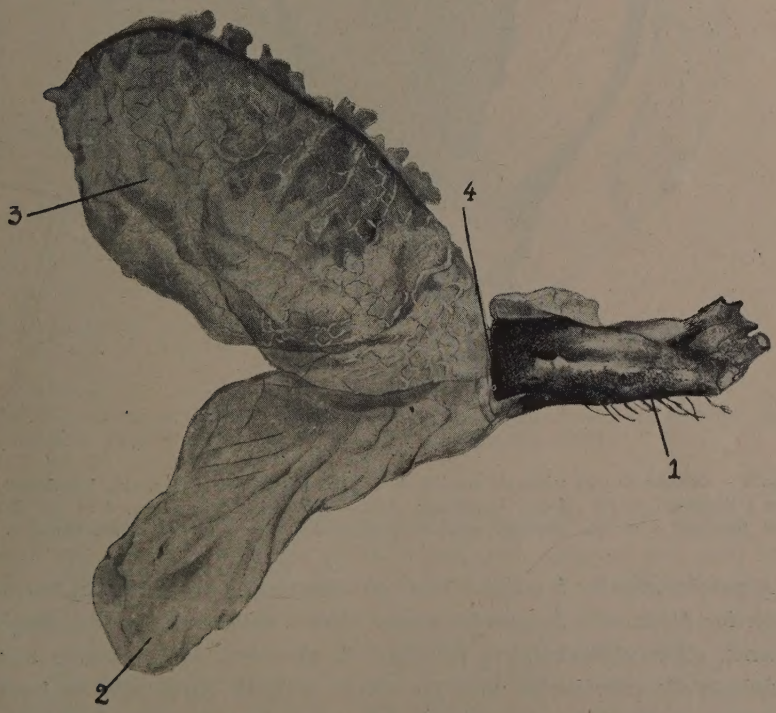


Fig. 1 — Glândula mandibular de uma operária de *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira*, dissecada, mostrando o formato bífido (1 = mandíbula; 2 = saco reservatório; 3 = saco secretor; 4 = orifício excretor da glândula tôda).

Esta glândula localiza-se lateralmente na cabeça da abelha e tem seu orifício de excreção junto à articulação da mandíbula com o crânio, ficando uma

parte do saco glandular localizada em frente do quiasma ótico e a outra atrás do mesmo, entre a musculatura que aciona a mandíbula (fig. 2).

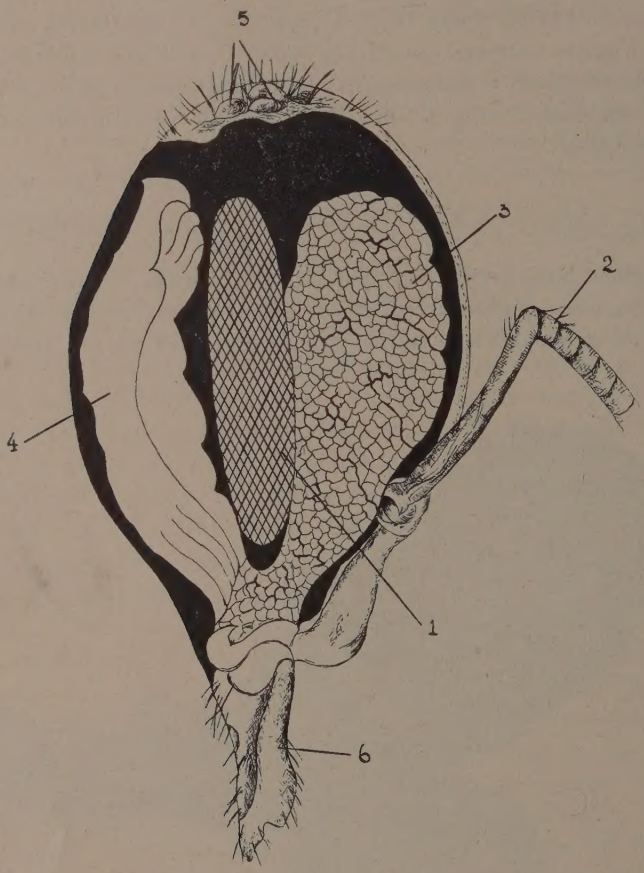


Fig. 2 — Esquema de uma cabeça de operária de *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira*, vista lateralmente, para mostrar a localização da sua glândula mandibular (1 = — lobo ótico; 2 = antena; 3 = saco glandular anterior (secretor); 4 = saco glandular posterior (reservatório); 5 = ocelos; 6 = mandíbulas) .

A porção anterior é maior e tem um aspecto granuloso (fig. 3), enquanto a posterior é um saco de paredes muito finas e delicadas, estriadas longitudinalmente, sendo o reservatório principal da glândula. Externamente os sacos glandulares são providos de uma membrana própria, envolvente, muito fina. Sôbre o saco anterior se localiza um dos sacos aéreos da cabeça, o qual está em íntima conexão com êle através de traquéolas que se ramificam sôbre o saco glandular. Em *Trigona* (*S.*) *postica*, segundo pudemos verificar, êsse saco aéreo chega a envolver totalmente a parte secretora da glândula mandibular (saco anterior).

Cada saco da glândula mandibular de *T.* (*O.*) *tataira* é formado por uma única camada de células que limita uma cavidade interna (lumem da glândula) bastante grande, onde se acumula a secreção. A cavidade interna é formada por uma membrana de natureza quitinosa, muito enrugada. Na parte anterior os dois sacos glandulares se fundem e formam um canal excretor, de grosso calibre, que também é forrado pela membrana íntima e que vai abrir-se na parte superior da base da mandíbula.

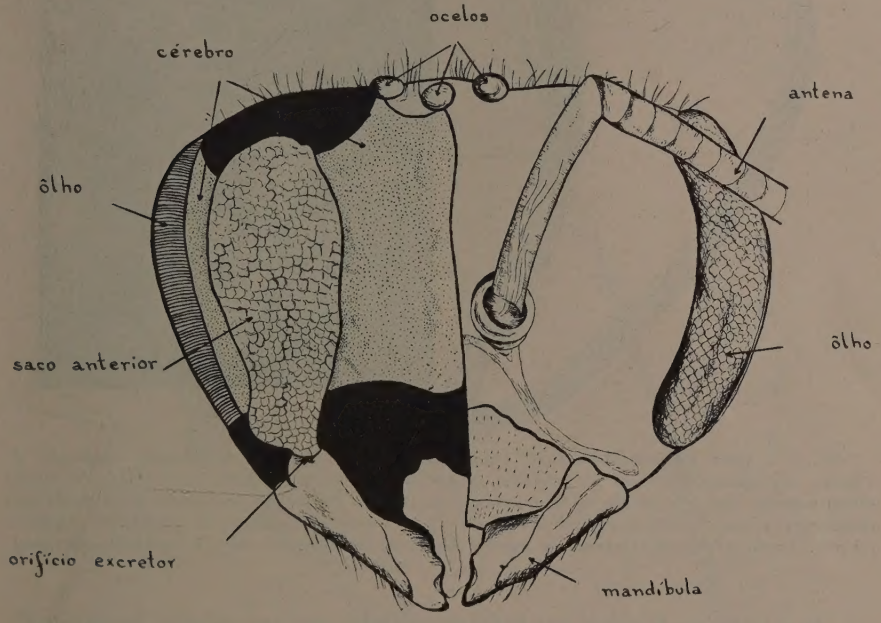
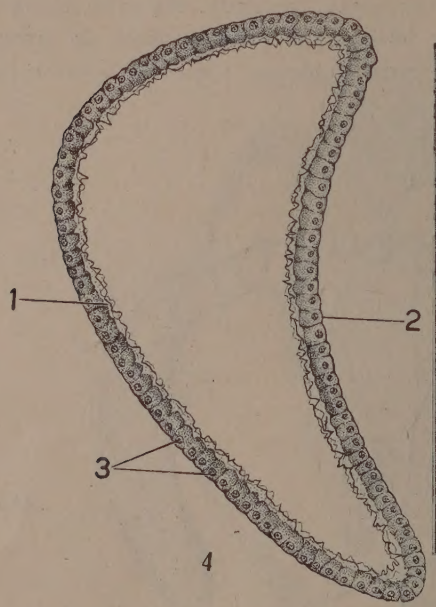


Fig. 3 — Esquema da cabeça de operária de *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira*, vista de frente, mostrando a localização da glândula mandibular. Só é visível a parte anterior, secretora.

O saco posterior da glândula apresenta-se formado de um epitélio cúbico simples (fig. 4). As células são providas de grandes núcleos nos quais se contam de 4 a 8 grânulos grandes de heterocromatina. O citoplasma apresenta-se granuloso e com grande afinidade pelos corantes acidófilos, uma vez que absorve grandemente a eosina em cortes corados com hematoxilina Delafield e eosina. Em abelhas jovens o núcleo está deslocado dentro da célula em direção à periferia da glândula. Todavia, em abelhas mais idosas êsses mesmos núcleos estão situados próximos à membrana íntima. Isso nos indica uma função secretora, se bem que não tão acentuada como no saco anterior. Amassando-se a glândula entre lâmina e lamínula com carmim acético a 1%, as células apresentam o aspecto da fig. 5.

O saco glandular anterior é formado por um epitélio escamoso simples, sendo as células bastante achatadas principalmente quando a luz da glândula está cheia de secreção (fig. 6).



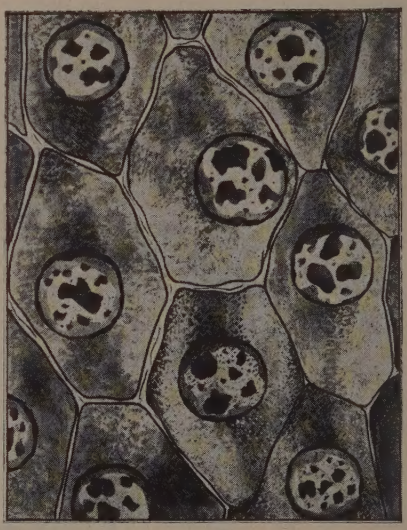


Fig. 4 — Corte longitudinal, vertical, quase sagital, do saco posterior da glândula mandibular de *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira* (1 = membrana íntima; 2 = membrana própria; 3 = células do epitélio cúbico simples). Fig. 5 — Células do saco posterior da glândula mandibular de operária idosa de *Trigona (Oxytrigona) tataira*, coradas com orceína acética a 1% e levemente esmagadas. A operária foi capturada em vôo. Como se percebe fàcilmente, o formato dessas células, vistas de cima, é levemente pentagonal.

As células que formam esta parte da glândula têm um aspecto "sui-generis". São achatadas e providas de um canalículo intra-celular.

Em preparações coradas com carmim acético e ligeiramente amassadas entre lâmina e lamínula, pôde-se estudar com detalhe a estrutura destas células. O seu núcleo é realmente enorme e finamente granular, apresentando espalhados, pequenos vacúolos (fig. 7).

Segundo NEDEL os canalículos intracelulares são originados de uma segunda camada de células, interna, que dá origem ao canalículo degenerando depois, permanecendo no entanto o núcleo da célula que lhe deu origem (figs. 7, 8, 9 e 10). O canalículo assim originado penetra nas células da segunda camada.

Os canalículos penetram na célula e comprimem fortemente o núcleo, às vêzes quase que o dividindo em duas partes iguais. Os canalículos têm calibre muito grande enquanto fora das células, mas ao penetrar nelas vão paulatinamente diminuindo de tamanho e ao entrar em contato com o núcleo tornam-se ainda menores, mas antes formam uma dilatação em forma de bulbilho à qual

é possível ver chegar túbulos coletores finíssimos que lhe dão um aspecto plumulado. Ao redor dêsse ponto sempre se forma um grande vacúolo, e, às vêzes, tem-se a impressão que os vacúolos nucleares pequenos ali despejam o seu conteúdo. Daí o canalículo se prolonga com forma de um túbulo bastante deli-

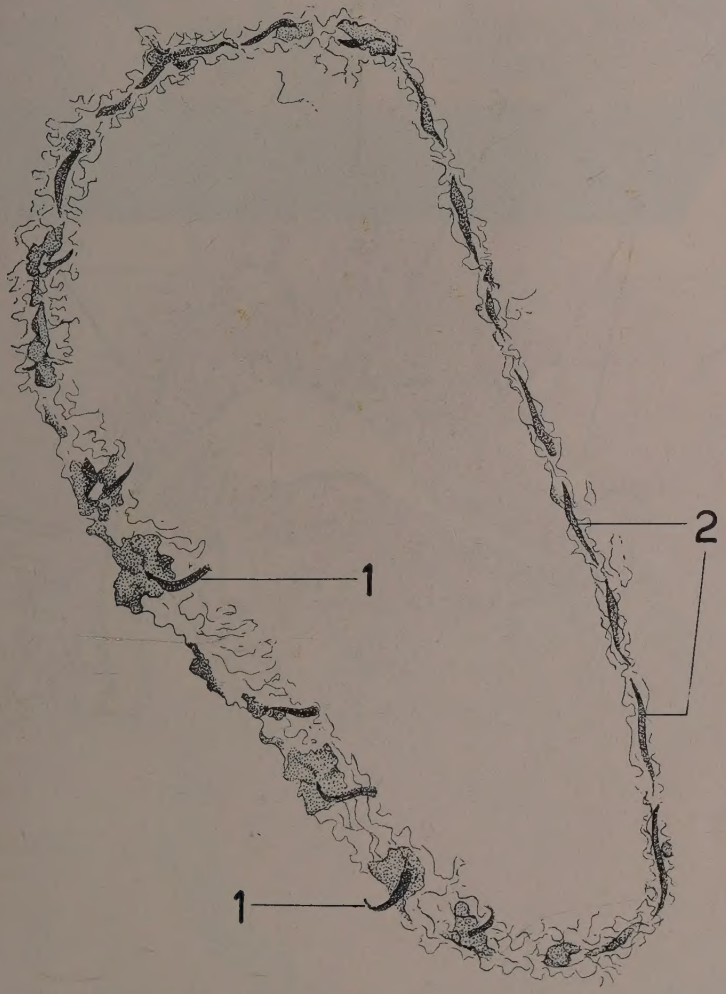


Fig. 6 — Corte longitudinal, vertical, quase sagital, do saco anterior da glândula mandibular de operária de *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira*, corada com hematoxilina-eosina e fixada com Weaver & Thomas (1 = canalículos que levam a secreção da célula para o lúmen interior, a parte esquerda da figura, onde estão os números 1, tendo sido apanhada em corte oblíquo, em que se vê as células secretoras quase verticalmente; 2 = núcleos das células secretoras vistos em corte perpendicular ao eixo da célula).

cado que percorre a superfície do núcleo e sai em direção ao citoplasma da célula. Fizemos um esquema de uma pequena porção da superfície glandular secretora para melhor demonstrar a situação dessas células (fig. 8).

Ao redor do canalículo, perto do seu ponto de origem, é possível ver um anel de material nuclear (fig. 9), que é o núcleo remanescente observado por NEDEL em *Trigona* (*S.*) *postica*. Cabe no entanto dizer aqui que os canalículos

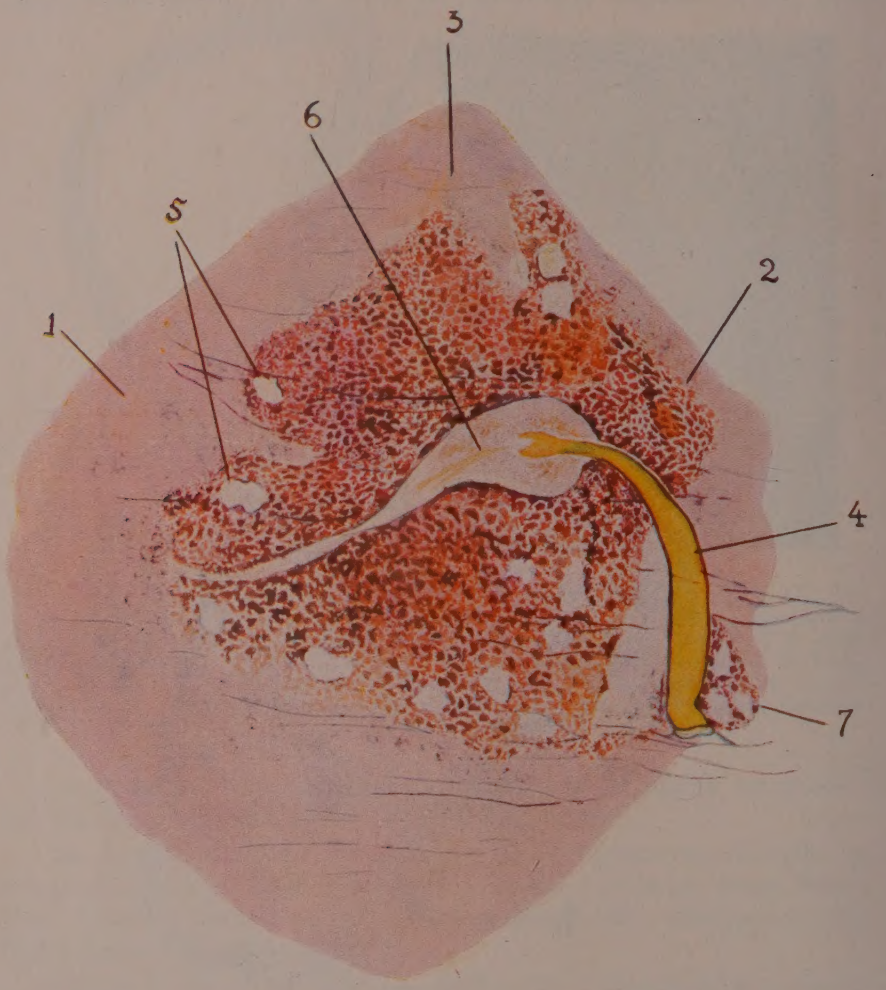


Fig. 7 — Célula secretora do saco anterior da glândula mandibular de *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira*, fixada com Weaver & Thomas, corada com carmim acético (1 = citoplasma; 2 = núcleo; 3 = estrias do saco glandular que fica sob a célula; 4 = canalículos que transportam a secreção para o lúmen da glândula; 5 = vacúolos nucleares; 6 = vacúolo excretor que se forma de maneira a drenar a secreção para a boca do canalículo; 7 = núcleo da célula que deu origem ao canalículo).

intracelulares, e mesmo o tipo de células secretoras descritos por NEDEL são diferentes dos que por nós foram encontrados em *Trigona* (*O.*) *tataira* sendo aquêles bem mais longos e desde o início mais delicados.

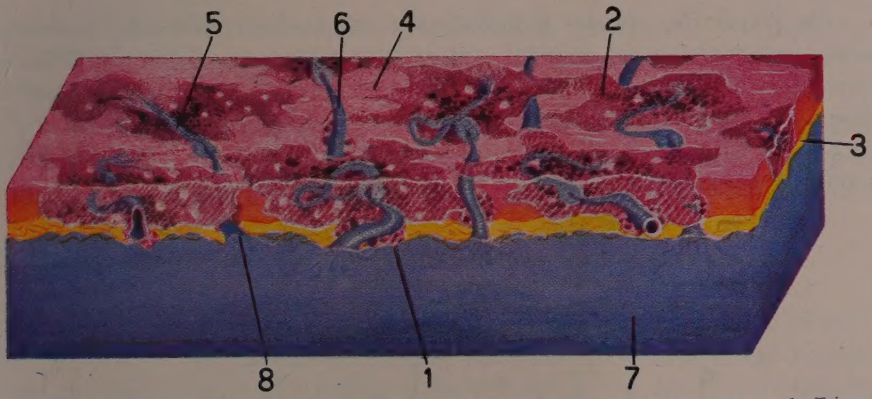


Fig. 8 — Esquema mostrando uma pequena secção do saco anterior da glândula mandibular de *Trigona (Oxytrigona) tataira*. A intenção é mostrar que o epitélio escamoso é formado de células chatas com núcleos grandes e irregulares (2) (coloridos aqui com orceína), providos de túbulos (6) que por um mecanismo de drenagem especial (5) colado ao núcleo, transporta a secreção (colorida com azul de anilina), até o lúmen do saco (7) através de um orifício (8) que se abre na membrana íntima (3) que para melhor destaque foi aqui desenhada em amarelo. O citoplasma (4) de uma célula (aqui colorida de rosa) mal se separa do de outra célula, pois a membrana é extremamente delgada. O núcleo da célula que deu origem ao canalículo (1) está ainda presente.

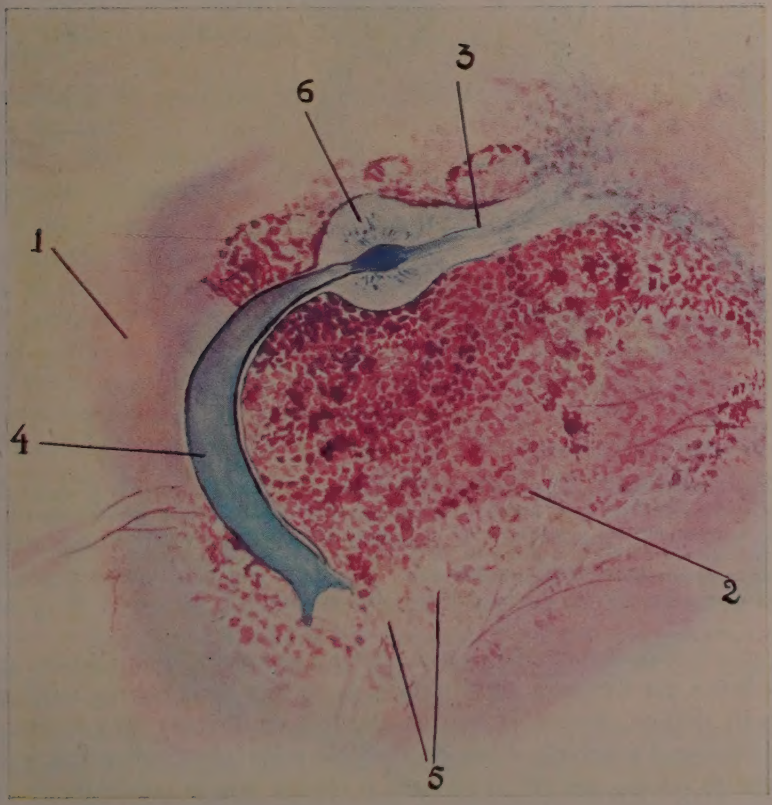


Fig. 9 — Célula nova, em plena atividade secretora, do saco anterior da glândula mandibular de operária de *Trigona (Oxytrigona) tataira*, corada com azul de anilina a 3% e carmim acético a 1%. O núcleo corou-se de vermelho e a secreção de azul (1 = citoplasma; 2 = núcleo; 3 = prolongamento intracelular do canalículo; 4 = parte extracelular do canalículo; 5 = vacúolos nucleares; 6 = vacúolo ao redor do bulbilho do canalículo).

Em preparações coradas primeiramente com azul de anilina a 3%, levemente acetificado, e em seguida, com carmim acético as células glandulares apresentam o aspecto das figs. 9 e 10, ficando os canalículos e o vacúolo nuclear maior corado pelo azul de anilina e o restante pelo carmim. A fórmula de azul de anilina por nós usada é aquela utilizada para corar o tecido conjuntivo nos tricrômicos de Masson ou de Mallory. Fizemos esta coloração por

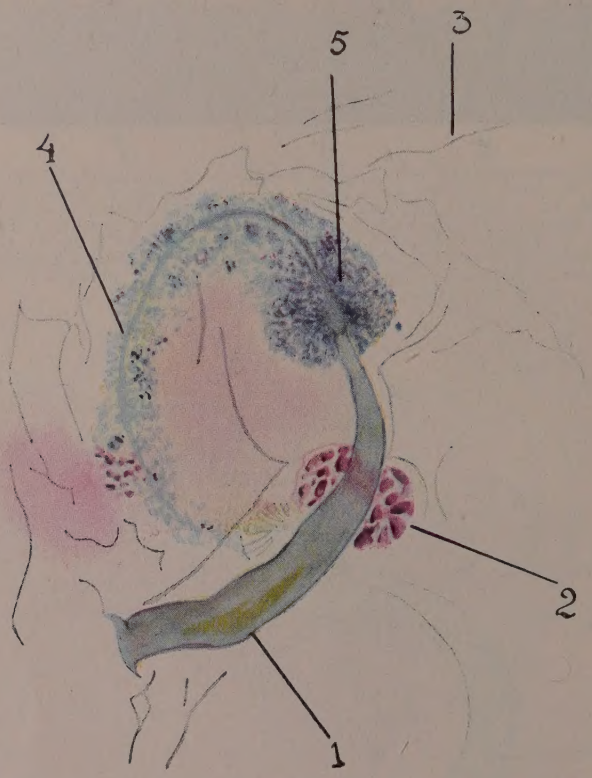


Fig. 10 — Célula velha, com pequena atividade secretora, do saco anterior da glândula mandibular de operária de *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira*, corada com azul de anilina, a 3% e carmim acético a 1%. O núcleo da célula diminuiu consideràvelmente de tamanho e o canalículo não tem mais a côr azul forte (1 = canalículo extracelular; 2 = núcleo da célula que deu origem ao canalículo; 3 = estrias da membrana íntima do saco glandular; 4 = prolongamento do canalículo drenador da secreção; 5 = canaletes secundários, que completam as estruturas drenadoras da secreção).

acaso quando esperimentávamos vários corantes na coloração da glândula e depois achamos em KENNEDY (1932) referência ao fato dêsse corante servir para evidenciar quitina. Porém no caso da glândula de *Trigona* (*O.*) *tataira*, evidenciamos que é a secreção e não o canalículo pròpriamente dito, que se cora pelo azul de anilina pois em pupas nem as células, nem os canalículos se apresentavam azuis. Usamos também a fucsina ácida, sugerida por KENNEDY para

quitina e obtivemos resultados muito semelhantes. No entanto, os canalículos antes de penetrarem na célula têm aspecto algo semelhante ao das traquéias o que sugere serem quitinizados.

Vários outros corantes foram usados para corar as células desta glândula. A reação nuclear de Feulgen e o azul de toluidina foram usados para evidenciar o núcleo, os quais confirmaram nossos resultados com o uso do carmim.

FUNÇÃO DAS GLÂNDULAS MANDIBULARES

Bordas (o.c.) faz poucas ou nenhuma referência à função das glândulas nos animais por êle estudados. Cita os trabalhos de Wolf que interpretam essas glândulas como órgãos olfativos, discordando porém dêles. Acha que de uma maneira geral, devido ao forte odor da secreção dessa glândula, ela serve, especialmente nas operárias, para:

1. ajudar a encontrar sua casa;
2. permitir defender-se contra inimigos;
3. facilitar a aproximação dos sexos.

Aventa ainda a hipótese da secreção (ácida) da glândula ter alguma função na digestão.

Haas (1946, 1949a, 1949b, 1952) descreve para diversas espécies de mamangavas do gênero *Bombus* um uso das glândulas mandibulares dos machos. Êsses machos, para melhor atrair as fêmeas, fazem uma trilha de marcas de perfume, deixando uma gotícula de perfume cada vez que param, e percorrem-na continuamente: uma mamangava rainha, atraída por êsse perfume, entra na trilha e é fecundada. Em algumas espécies de *Bombus,* os machos deixam as marcas de arbusto em arbusto, em outras, numa série de copas de árvores. Nestes casos as glândulas servem para, de certa maneira, comunicar às rainhas o lugar em que se encontram os machos.

Örözi-Pál (1957) estudou a função das glândulas mandibulares em operárias de abelhas (*Apis mellifera*) lançando mão de métodos que coravam a secreção glandular. Geralmente alimentava as operárias com uma solução de mel com Azul de Nilo ou com Sudan IV, ou injetava-as com os mesmos corantes. Chegou à conclusão que essas glândulas nas operárias têm função na manipulação da cêra e do própolis. A secreção glandular corada foi também encontrada no papo, sem que tivesse sido dada com o corante, ou penetrado através da circulação, o que faz pensar que a secreção glandular tem papel na desidratação do néctar, ou no processo de digestão.

Fêz também experiências com rainhas, nas quais a glândula mandibular é muito desenvolvida, mas não chegou a nenhuma conclusão a respeito da sua função; pensou numa função na abertura do casulo, ao emergir. Nedel (1960) chegou a conclusão que na rainha de *Apis mellifera* a glândula mandibular

desempenha sua função no vôo nupcial, formando em tôrno dela uma nuvem de cheiro que atrai os zangões. Achou para isso evidências histológicas de exaustão da glândula depois do vôo nupcial. Acha que a hipótese de que esta glândula seja a responsável pela secreção da "substância de rainha" está afastada, de vez que uma rainha pode viver e ser reconhecida como tal na colméia, sem glândulas mandibulares.

Todavia, Groot & Voogd (1954) e Butler (1956) demonstram que em *Apis mellifera* a "substância de rainha", inibe o desenvolvimento dos ovários nas operárias. Essa substância é particularmente abundante na cabeça, porém, é, daí, espalhada por todo o corpo. Butler & Simpson (1958) foram além, e demonstraram que essa "substância de rainha" é produzida nas glândulas mandibulares da rainha, de onde se espalha pelo corpo, e é suficiente para impedir que as operárias da colméia produzam realeiras. Butler (1959) tratou três grupos de abelhas (12 repetições de 30 abelhas em cada, por grupo) da seguinte maneira: 1) grupo A não tinha rainha; 2) grupo B tinha o corpo de uma rainha morta atado ao favo (êsse corpo sofreu extração em álcool etílico num aparelho de Soxhlet por 32 horas); 3) grupo C — igual ao B, porém, de 3 em 3 dias o corpo da rainha era mergulhado numa solução alcoólica do conteúdo das glândulas mandibulares de 12 rainhas mortas, recentemente, por congelamento. A experiência durou 16 dias, findos os quais as operárias foram mortas e seus ovários foram examinados. No grupo A, 223 operárias (62%) e no grupo B 245 operárias (69%) apresentaram desenvolvimento nos ovários, enquanto que no grupo C, que recebeu extrato da glândula mandibular, sòmente 67 operárias (18%) desenvolveram seus ovários ($P < 0.001$ de ser igual a A e B). Portanto, a substância produzida na glândula mandibular da rainha tem por função, entre outras, inibir o desenvolvimento dos ovários das operárias e inibir a criação de rainhas.

Lindauer & Kerr (1958, 1960) demonstraram que as glândulas mandibulares são usadas para comunicação nas seguintes espécies de meliponídeos: *Trigona* (*Cephalotrigona*) *capitata, Trigona* (*Geotrigona*) *mombuca, Trigona* (*Scaptotrigona*) *postica, Trigona* (*Trigona*) *ruficrus*. Kerr (1959, 1960) adicionou as seguintes espécies a essa lista: *Trigona* (*Scaptotrigona*) *postica II, Trigona* (*Scaptotrigona*) *postica III, Trigona* (*Scaptotrigona*) *bipunctata, Trigona* (*Scaptotrigona*) *xanthotrica, Trigona* (*Trigona*) *trinidadensis, Trigona* (*Trigona*) *hyalinata*. Em tôdas essas espécies a operária que descobriu uma fonte de alimento procede da seguinte maneira para comunicar êsse achado às demais colegas: após diversos vôos da fonte de alimento até a colméia, ela volta à colméia, parando de espaço a espaço para soltar uma gotícula de perfume, fazendo assim um caminho perfumado, ligando o ninho às flôres. Lindauer & Kerr (o.c.) demonstraram que abelhas dêsses grupos não conseguem se comunicar através de massas de água, porém têm capacidade de indicar a direção para cima e para baixo, no que superam as *Apis mellifera*. Verificaram ainda que cada espécie usa uma certa distância média entre uma marca e ou-

tra: *Trigona ruficrus* é cêrca de 8 a 10 metros, em *T. postica* cêrca de 1 a 2,5 metros, em *T. capitata* cêrca de 5 metros. KERR (1960) verificou que em *Trigona trinidadensis* é cêrca de 20 metros. Também LINDAUER & KERR (1960) verificaram que há uma distância mínima da flor à colméia, aquém da qual as operárias não iniciam a marcação. Para a *Trigona capitata* ao redor de 25 metros, para a *T. mombuca* é de menos de 3 metros.

KERR (1959) observou que em *M. quadrifasciata* tôdas as indicações são de que as abelhas soltam no ar grandes quantidades de perfume formando assim uma "ponte aérea" de perfume que indica a direção às abelhas. Parece que êsse método é usado por outros meliponídeos também.

Uma outra função para as glândulas mandibulares dos meliponídeos que descobrimos há pouco tempo foi a de derreter a cêra. É fácil tal observação, pois basta colocar uma mandíbula e sua glândula num pouco de cêra que percebe-se que ambas começam a penetrar na cêra dissolvendo-a. Aliás, a secreção das glândulas faringeais da cabeça dos meliponídeos tem a mesma propriedade.

Finalmente, queremos referir-nos às propriedades que tem a glândula mandibular, extraordinàriamente desenvolvida, das *T.* (*O.*) *tataira*.

1.ª) *Função de Comunicação* — Treinamos no dia 18-6-60 uma operária de *T.* (*O.*) *tataira flaveola* a alimentar-se numa placa de Petri situada a 150 m da colméia. A 10 m dêsse alimento colocamos uma outra, ambas com o mesmo perfume (anís). A abelhinha treinada (pintada de amarelo) num certo momento marcou a placa de Petri com uma gotícula de perfume, depois um muro a 3 m de distância (2,50 m de altura), depois, a 0,50 m, um pinheiro (3 m de altura), daí a copa de outro pinheiro (4,50 m de altura) a 3 m de distância. Poucos minutos se passaram e começaram a aparecer as novatas, cujo número, em menos de 15 minutos, subia a mais de 200. Só após meia hora é que duas abelhinhas descobriram a placa contrôle. Dentro de 10 minutos começaram a "marcar" e também êsse lugar ficou cheio de tatairas. Concluímos pois que a *Trigona* (*O.*) *tataira* também se utiliza do método altamente especializado das trigonas superiores. Essa é a menor espécie conhecida de *Trigona* que se utiliza do método de "marcação" com gôtas de perfume para comunicação. Achamos de interêsse relatarmos aqui que esta abelha tem memória muito ruím. Três dias após terem coletado intensivamente na placa de Petri não eram mais atraídas a ela ao ser dado alimento e odor de anís na entrada da colméia.

Achamos interessante mencionar que a altura preferida por essa abelha para "marcar" (2,5 a 5 m), é bem mais elevada que a preferida pela *Trigona postica* (0,5 a 3 m).

2.ª) *Função de defesa* — Sua outra função é a defensiva. Experimentamos receber uma descarga de sua glândula em lugar de pele sensível (atrás

da orelha). Como resultado, por cêrca de 19 horas ficou doendo e a "queimadura" levou cêrca de 8 dias para curar. Para atacar, a abelha pousa sôbre a pessoa e percorre andando (fortemente colada à superfície onde pousou) cêrca de 9 a 10 mm, largando uma listra de 1 mm de largura de secreção urticante. Após 3 dias, no lugar "queimado" levantaram-se bôlhas, o que demonstra que a secreção penetrou até os capilares sanguíneos.

Para apurarmos qual era a glândula responsável pelo veneno dissecamos abelhas coletadas na porta da colméia, atacando o observador. Raspamos uma área de aproximadamente 6 cm^2 no nosso braço a fim de tornar as terminações nervosas desprotegidas de modo a acusar com facilidade a deposição de material urticante. Foram colocadas as glândulas mandibulares, salivares da cabeça e salivares do tórax. Pelo forte ardor produzido, foi fácil identificar a glândula mandibular como responsável pelo veneno urticante.

A secreção dessa glândula é amarelada e de aspecto oleoso, tendo um pH entre 5 e 6, portanto ácido. A quantidade de secreção que uma abelha pode eliminar de cada vez é relativamente grande, o cheiro é forte e bastante característico.

Não se sabe ainda ao certo como essa secreção é produzida, qual o mecanismo de sua eliminação.

A organização das células do saco superior da glândula faz pensar que seja esta a parte secretora. O fato do canalículo intracelular partir de um enorme vacúolo fortemente aderente ao núcleo e de existirem vacúolos menores intranucleares, faz pensar que o núcleo tenha parte ativa na secreção, a qual seria armazenada nos pequenos vacúolos nucleares, que iriam abrir-se no grande vacúolo, de onde seria captada pelo canalículo excretor.

Um canalículo de tal calibre e com tal refôrço de quitina, como êste que serve às células do saco glandular anterior, parece ser evidência de que a secreção glandular seja talvez tóxica para a célula que a produz, necessitando ser porisso imediatamente lançada num canalículo a ela infenso, donde passa para a luz da glândula, que como já dissemos também é revestida de uma íntima quitinosa.

Muitas vêzes percebe-se que a secreção saindo do canalículo para a luz da glândula é muito densa. Também devido ao grande volume do saco anterior presumimos que tanto o anterior como o posterior ajam como depósitos.

Tudo isto, no entanto, são evidências morfológicas, pois realmente nada sabemos da composição química da secreção desta glândula, problema êsse que estamos levando à frente em colaboração com o Dr. M. Blum, da Louisiana State University.

Quanto à eliminação da secreção, podemos pensar em vários mecanismos.

1.º) Bordas (o.c.) referia-se, ao descrever as glândulas mandibulares de *Nomada*, que estas eram providas de fibrilas musculares longitudinais que ajudavam na eliminação da secreção. Nós verificamos também essa estriação, embora não possamos encontrar qualquer evidência de uma natureza muscular,

no saco glandular posterior, que pensamos seja o reservatório principal da glândula.

2.º) O fato do reservatório principal se achar localizado entre a musculatura que aciona a mandíbula, e o fato da abelha, no ato de eliminar a secreção, fazer movimentos com esta última, parece indicar que, o reservatório sofre por êsse processo uma série de compressões que fazem com que seu conteúdo seja esvaziado.

3.º) O fato da glândula mandibular estar em íntima relação com um dos sacos da cabeça, como já foi dito, pode sugerir que uma injeção de ar no interior da glândula ajude a eliminar a secreção. Isso parece-nos pouco provável, uma vez que a parte que recebe maior quantidade de traquéolas é justamente a secretora, enquanto o saco posterior, que temos encontrado mais freqüentemente cheio de líquido e que parece ser o reservatório principal não apresenta aparentemente nenhuma aeração. Talvez a vasta rede de traquéias que cobre o saco glandular anterior esteja antes de tudo em função do requerimento de O_2 desta parte, para as sínteses que deverão aí se realizar.

4.º) Como já foi dito, o orifício de excreção desta glândula se localiza na face superior interna da mandíbula. Aí a secreção aparece com a forma de gotículas amareladas, que depois escorrem por um sulco existente na mandíbula. Nedel descreve em *Trigona* (*S.*) *postica* a existência de um mecanismo de abertura e fechamento do orifício, provido de musculatura própria.

SUMMARY

A revision of anatomy, histology and functions of mandible glands of bees is given as an example of different functions of a same organ attained in the course of their evolutionary history.

A new function, defense and attack, is described for the mandible gland of *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira* (Meliponini, Apidae).

This gland, besides being used for the production of a caustic liquid is also used for communication. For communicating, these bees follow the system, already described for several trigonas, in which the scout bee makes a smelling path from feeder to hive, leaving small droplets of scent in the objects found in the way. In the case of *Trigona* (*O.*) *tataira* these smell marks are 2 or 3 meters spaced.

The morphology and histology of this gland is described. The mandible gland of *Trigona* (*Oxytrigona*) *tataira* is a bifid sac laterally placed in the head and with exit in the basis of the mandible. Both sacs have a simple epithelium one being reservoir and the other being mainly secretor. The reservoir is made of cubic cells. The secretory part is made up of flat cells which have a very large duct. This duct brings out the secretion to the lumen of the gland.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BORDAS, M. L., 1895, Appareil glandulaire des Hyménoptères. *Ann. Sci. Nat., Zool.*, 19: 1-362.

BUTLER, C. G., 1956, Some further observations on the nature of "queen substance" and of its role in the organization of a honey-bee (*Apis mellifera* L.) communication. *Proc. R. ent. Soc. London*, (A) 31: 12-15.

BUTLER, C. G., 1959, The source of the substance produced by a queen honey-bee (*Apis mellifera* L.) which inhibits development of the ovaries of the workers of her colony. *Proc. R. ent. Soc. London*, (A) 34: 137-138.

BUTLER, C. G. & SIMPSON, J., 1958. The source of the queen substance of the honey-bee (*Apis mellifera* L.). *Proc. R. ent. Soc. London*, (A) 33: 120-122.

GROOT, A. P. & VOOGD, S., 1954, On the ovary development in queen bees worker bees (*Apis mellifera* L.). *Experientia*, 10: 384.

HAAS, A., 1946, Neue Beobachtungen zum problem der Flugbahnen bei Hummelmannchen. *Z. Naturforsch.*, 11: 596-600.

HAAS, A., 1949a, Art-typische Flugbahnen von Hummelmannchen. *Z. vergl. Physiol.*, 31: 281-302.

HAAS, A., 1949b, Gesetzmassiges Flugverhalten der Männchen von *Psithyrus silvestris* und einiger solitärer Apinen. *Z. vergl. Physiol.*, 31: 671-683.

HAAS, A., 1952, Mandibeldrüse als Duftorgan bei einigen Hymenopteren. *Z. Naturforsch.*, 39: 484.

KENNEDY, CH., 1932, *Methods for the study of the internal anatomy of insects*. 103 pp., Dept. Ent., Ohio State Univ., Columbus, Ohio.

KERR, W. E., 1959, Bionomy of Meliponids — VI — Aspects of food gathering and processing in some stingless bees. Symposium on Food Gathering Behavior of Hymenoptera (7th Annual Meeting of the Ent. Soc. Amer., Detroit, Mich., cf. pp. 24-31).

KERR, W. E., 1960, Evolution of communication in bees and its role in speciation. *Evolution*, 13 (3): 386-387.

LINDAUER, M. & KERR, W. E., 1958, Die Gegenseitige verstandigung bei den stachellosen Bienen. *Zeit. verg. Physiol.*, 41: 405-434.

LINDAUER, M. & KERR, W. E., 1960, Communication between the workers of stingless bees. *Bee World*, 41 (2): 29-41; (3): 65-71.

NEDEL, J. O., 1960, Morphologie und physiologie der Mandibeldruse einiger Bienen-Arten (Apidae) — Tese para doutoramento na Univ. de Munich, Alemanha.

ORÖZI-PÁL, Z., 1957, The role of the mandibular glands of the honey bee. *Bee World*, 39 (3): 70-73.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 17-36
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

TESTE PARA A DETERMINAÇÃO DO GRAU DE REPELÊNCIA DO PIRETRO USADO EM ESPIRAIS PARA MOSQUITOS E O EFEITO SINÉRGICO DO BUTÓXIDO DE PIPERONILA [1]

MARCOS KOGAN
Escola Nacional de Agronomia, Universidade Rural, Rio de Janeiro

(Com 6 figuras no texto)

As invasões domiciliares por mosquitos constituem problema sanitário dos mais graves. Êste fator tem estimulado a pesquisa e a aplicação dos mais variados métodos, no intuito de erradicar a praga, ou pelo menos, minorar os seus malefícios. Mesmo em áreas urbanas altamente saneadas, pequenas coleções dágua permitem o desenvolvimento de densas populações dêstes insetos que chegam a constituir, em certas épocas do ano, verdadeiro flagelo.

Ùltimamente tem havido um aumento apreciável no emprêgo de espirais repelentes. O sucesso desta prática, visando abrandar os incômodos causados por mosquitos, é evidenciado pela multiplicidade de marcas comerciais encontradas no mercado e o grande volume da produção. Baseados em dados estimativos, não oficiais, cremos haver uma produção anual, no Brasil, não inferior a 100 milhões de unidades, por intermédio de 12 fabricantes principais.

O uso de fumaças repelentes constitui prática difundida entre as populações rurais que sabem ser eficiente a queima de certas folhagens odoríferas, ou até mesmo, de esterco sêco de curral.

As espirais fabricadas são de fácil aplicação, têm em geral odor agradável e não irritante para o homem. O seu emprêgo permite, na maioria dos casos, manter janelas abertas para ventilação, evitando, ou ao menos diminuindo, a incidência de ataques noturnos.

Mosquitos submetidos a doses consideráveis de fumaças (em laboratório) apresentam rápido "knock-down". O efeito normal destas fumaças é, porém, a repelência. Os princípios ativos usados na sua composição, principalmente

[1] Recebido para publicação a 13 de janeiro de 1961.
Trabalho realizado na Cadeira de Entomologia Agrícola (Prof. Cat.: Cincinnato R. Gonçalves), sob os auspícios do Instituto de Economia Rural.

as piretrinas, agem em doses muito pequenas como estimulantes do vôo (PAGE, 1948), provàvelmente evitando o pôuso do inseto no espaço impregnado pelas fumaças.

Espirais repelentes — Uma espiral é preparada com uma massa constituída de: 5 partes de serragem de madeira dura para uma parte de serragem de pinho; um aglutinante — em geral, goma de amido ou farinha de mandioca; um oxidante, para alimentar a combustão — geralmente, KNO_3; anilina verde — para uniformizar a apresentação do produto e a parte ativa, constituída em geral, por pó de piretro ativado com butóxido de piperonila. As espirais são prensadas na forma que lhes dá o nome e sêcas a 48-50°C.

Uma espiral, que pesa cêrca de 15 g, deve queimar uniformemente por 5-6 horas, desprendendo-se então as fumaças impregnadas com pequeníssimas porções de piretrinas, volatilizadas antes de sua total oxidação.

O emprêgo do piretro recomenda-se, não só por suas propriedades repelentes, como também por sua grande inocuidade a animais de sangue quente. Esta inocuidade é de tal ordem que mesmo a rigorosa legislação norte-americana para o emprêgo de inseticidas em produtos alimentícios ou fins domésticos, permite a aplicação de piretro, sem restrições de tolerância ou outras limitações quaisquer (U.S. Dept. Agric., 1958). O seu LD50, em doses orais para ratos, é de 1.500 mg/kg (seg. LEHMAN, *in* METCALF, 1955). A inalação de aerossois de Aletrina (piretróide sintético de ação muito semelhante à das piretrinas) em doses 10.000 vêzes maiores que as usadas normalmente, foram letais para apenas 10% dos ratos testados (METCALF, 1955).

Natureza do problema — A inclusão do piretro na fabricação de espirais contra mosquitos tornou-se prática consagrada; não há, todavia, experimentação a respeito e o problema de dosagens ficou resolvido de maneira mais ou menos espírica.

O aumento da demanda tornou por vêzes escasso o suprimento de piretro aos fabricantes de espirais .Procurou-se, por isso, ativar o inseticida por intermédio de um sinergista, no caso o butóxido de piperonila, produto sintético que usado em proporções convenientes poderia permitir superar os períodos de escassez. Por outro lado, a substituição de parte do piretro pelo ativante, muito mais barato que aquêle, poderia fazer baixar consideràvelmente o preço do produto, caso o seu uso se recomendasse como prática rotineira.

Visamos, neste trabalho, verificar a eficiência de espirais contendo piretro e a variação do grau de repelência com a variação do teor em piretro. Propomo-nos, outrossim, a estabelecer as relações — Piretro: Butóxido de Piperonila que apresentem resultados comparáveis às melhores formulações contendo ùnicamente Piretro. Desta forma testaríamos experimentalmente o efeito sinérgico do Butóxido de Piperonila quando usado em espirais repelentes.

Agradecimentos — Devido à inexistência de experimentação no campo de repelentes em forma de fumaças, vimo-nos na contingência de recorrer ao auxílio de muitos técnicos em diversos setores, em várias instituições cuja lista completa seria impossível incluir sem riscos de omissão. Deixamos expressos os nossos agradecimentos a todos os que conosco colaboraram na realização dêste trabalho.

Devemos, no entanto, mencionar aquêles que mais de perto acompanharam o desenrolar das experiências: Dr. J. Brodbeck, Taquara, R.G.S., Brasil, químico especialista em Piretro, sob cuja orientação foram preparadas as espirais empregadas nos testes; Dr. Alberto Penteado da Secção de Estatística do Serviço Nacional de Pesquisas Agronômicas, R.J., Brasil, que nos orientou na análise da variância empregada para a confirmação da comparação dos resultados obtidos pelas linhas de regressão; Sr. Gilson Ribeiro Pinto, auxiliar de laboratório da Cadeira de Entomologia Agrícola da Escola Nacional de Agronomia, cujo zêlo na criação dos mosquitos, garantiu a uniformidade do material biológico, sem a qual seria impossível a realização dos testes. Finalmente agradecemos à firma: Pirisa Piretro Industrial S.A., Rio de Janeiro, Brasil, pelo auxílio prestado na preparação das espirais testadas, e também, por ter-nos facilitado a obtenção da aparelhagem empregada nos testes.

MATERIAL E MÉTODO

A espécie escolhida — Para os testes selecionamos o culicídeo: *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, por se tratar do mosquito de hábitos domiciliários que ocorre com maior freqüência no Brasil, tendo além disso, interêsse médico como responsável pela transmissão da filariose bancroftiana em determinadas regiões (Rachou & Lima, 1953; Rachou, 1958).

Sua criação em laboratório foi feita a partir de 20 posturas ("jangadas") que nos foram gentilmente cedidas pelo Dr. Rostand, do Núcleo do Dept. Nacional de Endemias Rurais, no Instituto Oswaldo Cruz.

Olfatômetro — Devido à absoluta falta de referências bibliográficas no campo dos repelentes em forma de fumaças, procuramos adaptar às nossas necessidades, alguns aparelhos idealizados para experimentos que envolvem reações olfativas ou outras reações quimiotrópicas que a elas se assemelham e que recebem a designação de olfatômetros.

O olfatômetro de Geigy & Utzinger, 1953 (Busvine, 1957), planejado para testar repelência em *Formica rufa* e em *Rhodnius prolixus*, pareceu-nos adequado para os nossos objetivos, tendo sido adaptado para êstes testes. Êste olfatômetro é conhecido como do "Tubo em *T*" e baseia-se na circulação de uma corrente de ar por cada ramo do "*T*", fazendo-se a saída dos gases pelo ramo vertical. Por um lado circula ar puro, pelo outro introduz-se o repelente. A distribuição dos insetos em cada ramo dá uma indicação da repelência.

Descrição (figs. 1, 2, 3):

1e-1d: tubo de vidro com 1420 mm de comprimento, 42 mm de diâmetro e um orifício central com 20 mm de diâmetro. É dividido por fora em 8 secções, por meio de um fio de arame fino.

2-2': frasco hamburguês de 2 l, contendo 1 l de água destilada. A rôlha é atravessada por 2 tubos: o 1.º para a entrada do ar que é conduzido para um banho dágua, o 2.º é o de saída do ar purificado.

3-3': frasco hamburguês de 2 l, para diluição das fumaças. A rôlha é atravessada por 3 tubos: o 1.º provém do frasco n.º 2, conduzindo o ar purificado; o 2.º (17-17') abre-se num funil no interior do frasco e recebe a mistura ar + fumaças, conduzindo-a para o tubo 1e-1d; o 3.º (18-18') dá entrada para as fumaças provenientes das câmaras de queima (4-4').

4-4': câmara de queima da espiral, capacidade de 500 cm³. É obturada por meio de uma tampa de metal com rôsca e uma rôlha de borracha adaptada ao centro. A tampa é atravessada pelo tubo 14-14', proveniente do compressor II que insufla o ar necessário para a combustão da espiral, garantindo ainda a saída das fumaças através do "Y" de vidro 12-12'. Um ramo dêste "Y" leva parte dos produtos da queima da espiral para o frasco de diluição (3-3') e outro ramo leva o excesso de fumaças para ser eliminado.

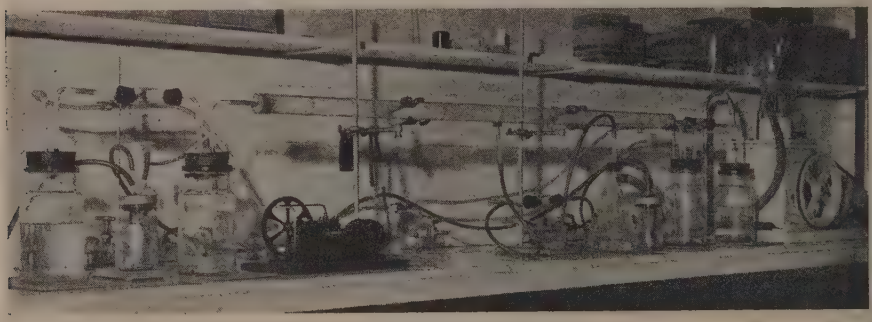


Fig. 1 — Vista geral do olfatômetro.

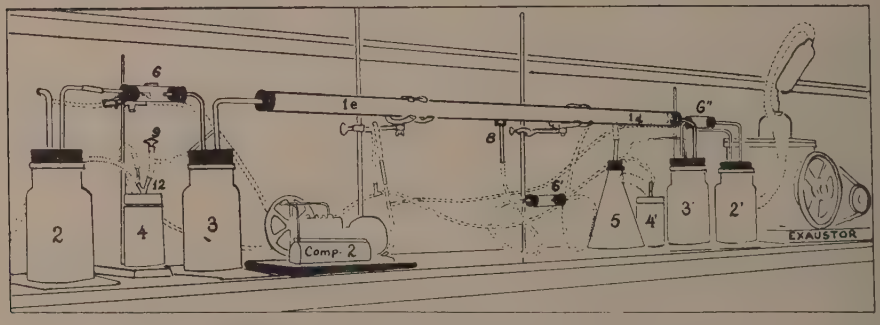


Fig. 2 — Contôrno da vista geral do olfatômetro. Explicação no texto.

5: Kitasato — para contrôle da vasão de saída e purificação dos gases provenientes do tubo 1e-1d. É ligado ao exaustor e ao orifício central do tubo 1e-1d.

6-6'-6'': medidores da vasão de ar.

7-7': funís de vidro de 60º, 38 mm de diâmetro interno, 45 mm de haste, para a difusão dos gases que entram no tubo 1e-1d. São obturados, no interior do tubo, por uma tela de malha larga (de algodão) para impedir a saída dos mosquitos.

8: tubo para a conexão com o exaustor. Obturado superiormente por uma tela fina de cobre.

9-9': torneiras de vidro — diâmetro externo das vias: 7 mm; diâmetro do furo da rôlha: 2 mm.

10-10': torneiras retas de vidro — diâmetro externo das vias: 8mm; diâmetro do orifício da rôlha: 4 mm.

11: "Y" de vidro — diâmetro externo: 7 mm; comprimento dos braços: 60 mm.

12-12: "Y" de vidro — diâmetro externo: 7 mm; comprimento dos braços: 40 mm.

13-13': suporte de metal para prender a amostra de espiral testada.

14-14': tubo de vidro de entrada de ar para a câmara de queima.

15: válvula de contrôle da exaustão.

16-16': pequena rôlha em forma de tronco de cone, fixa à abertura do funil (7-7') que age auxiliando a difusão da corrente de ar dentro do tubo 1e-1d.

Compressor I: fonte da corrente de ar que circula no aparelho. Compressor Ingersoll-Rand, modêlo 23A-34, tipo 30.

Compressor II: pequeno insuflador de ar E. Leitz. Alimenta a combustão das espirais no frasco de queima.

Exaustor: foi usada uma bomba de vácuo "Fysma" — a óleo.

Os condutos foram feitos com tubos de vidro de 5 e de 7 mm de diâmetro interno e as conexões com cano plástico transparente de 9 mm de diâmetro.

Sendo o aparelho simétrico, descrevemos apenas um dos ramos dando a indicação das peças do lado esquerdo por um número e as correspondentes do lado direito, pelo mesmo n.º acrescido de apóstrofe (8').

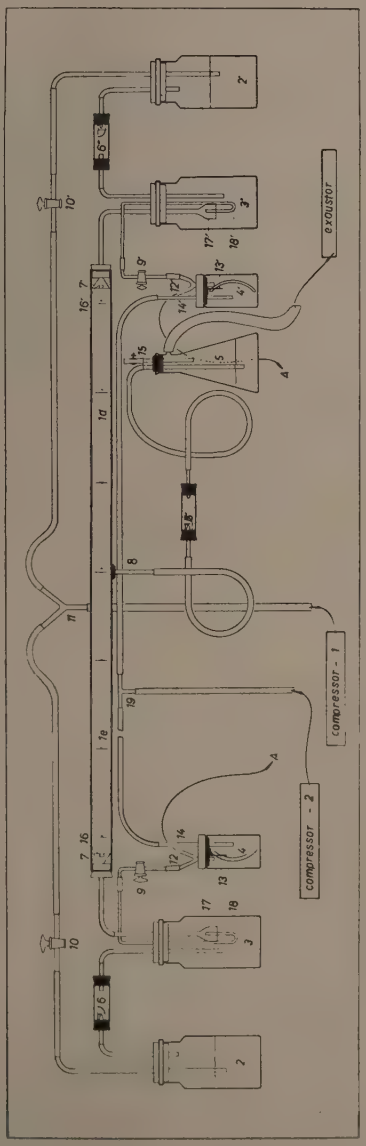


Fig. 3 — Planta do olfatômetro. Explicação no texto.

Funcionamento — Para cada teste são selecionadas 30 fêmeas de 4-5 dias e colocadas no tubo (1e — 1d):

Fazemos então circular, por cada ramo do tubo, uma corrente de ar com vazão de 4,5-5 l/minuto. Esta corrente é proveniente do compressor I, penetra através o "Y" (11), cujos ramos orientam-na para cada braço do aparelho. O ar antes de ser introduzido no tubo (1e-1d), passa por um banho dágua (frascos 2-2'), seguindo daí para o frasco de diluição (3-3').

No início do teste, fazemos entrar, pelo ramo direito do aparelho (1d), ar impregnado com fumaças da espiral testemunha (n.º 11, Quadro I). Estas fu-

maças levam os mosquitos a se concentrarem no ramo 1e. Fechamos, após 0,5 minuto, a torneira 9', que dá entrada a essas fumaças, e fazemos circular por todo o aparelho ar puro, durante 2 minutos.

Uma vez obtida a concentração da maioria dos mosquitos, no ramo 1e, abrimos a torneira 9 e assim penetram no frasco de diluição (3) as fumaças provenientes da queima da amostra a testar, cuja combustão é obtida no frasco 4. A vazão de saída das fumaças do frasco 4 é de 0,5 l/minuto, mas a metade desta quantidade é eliminada para a atmosfera (A), por uma das vias do "Y" (12).

O ar carregado de fumaça, proveniente da câmara de combustão (4), com uma vazão de 0,25 l/minuto, mistura-se com o ar puro proveniente do frasco 2, fazendo-se, então, a diluição do repelente (frasco 3). A corrente de ar e fumaça penetra no ramo 1e do tubo, enquanto pelo ramo 1d continua circulando ar puro, com vazão idêntica à de 1e. Ambas as correntes são esgotadas pelo orifício central do tubo, através o tubo de conexão (8), aspiradas pelo exaustor que garante um fluxo de saída de 8,5-10 l/minuto.

Os mosquitos tendem a fugir do ramo 1e, por onde circula o repelente e, se atingem o ramo 1d, êles lá se estabelecem. Como não há um gradiente entre a zona impregnada e a zona de ar puro, que pudesse orientar os mosquitos, costumamos dar leves pancadas com a mão, no tubo 1e-1d, de um extremo ao outro, para obrigá-los a mudar constantemente de posição. Interrompemos as pancadas sòmente para fazer as contagens.

Aberta a torneira de entrada do repelente (9), contam-se os mosquitos que permanecem no ramo 1e, de minuto em minuto, durante 5 minutos.

A medida do grau de repelência é então obtida, relacionando-se a percentagem dos mosquitos que fogem e o tempo de ação do repelente.

Após cada teste o tubo (1e-1d) é lavado com álcool e trocadas as peças que se impregnam de fumaças (tela que veda os funis 7-7' e as rôlhas 16-16'). Quando mudamos de uma formulação para outra, lavamos tôda a aparelhagem por onde circulam as fumaças com água, mistura sulfo-crômica e álcool.

Coleta de dados — Os resultados dos testes foram marcados em fichas em que simbolizamos por barras horizontais com 8 divisões o tubo (1e-1d) com suas secções. Para cada teste, tomamos os seguintes dados:

1) Distribuição dos mosquitos no tubo (1e-1d) antes de circular o ar. Isto nos dá uma indicação de possíveis falhas de limpeza do tubo que levariam os insetos a se concentrarem em certos pontos, evitando outros. Quando necessário, refaz-se a limpeza do tubo.

2) Distribuição após a circulação de ar puro. Indica-nos possíveis falhas de limpeza da tubulação que conduz o ar.

3) Distribuição final após a concentração máxima de mosquitos no ramo 1e, obtida, fazendo-se circular pelo ramo 1d fumaças da espiral testemunha

(amostra 11), durante 0,5 minuto, circulando depois ar puro por todo o aparelho durante 2 minutos. Entre 20 e 30 mosquitos, devem estar concentrados no ramo 1e.

4) Distribuição dos mosquitos 1, 2, 3, 4 e 5 minutos após o início da entrada do repelente pelo ramo 1e.

Anotados os números dos insetos que permanecem no ramo 1e, após cada contagem, diminuímos esta quantidade do total de mosquitos concentrados neste ramo no início da entrada do repelente, obtendo, assim, a quantidade dos que fugiram; transformamos, então, esta quantidade em percentagem, sendo êste o valor a que nos referimos na análise como percentagem de fuga.

Espirais testadas — Sob orientação do Dr. J. Brodbeck (Taquara, R.G.S., Brasil), químico especialista em piretro, foram preparadas espirais de composição padronizada, variando sòmente o teor em piretrinas ou fixando o teor em piretrinas e variando a concentração do butóxido de piperonila. As concentrações são dadas em mg (de piretrinas ou butóxido de piperonila) por 100 g de espiral.

Depois de uma série de experiências preliminares incluindo formulações que apresentavam piretro e butóxido de piperonila em relações que variavam de 1:0,25 até 1:8, limitamo-nos às que constam do Quadro I, pois aquelas com relações abaixo de 1:5 não apresentaram qualquer efeito sinérgico.

As amostras do Quadro I são designadas por numeração salteada pois as intermediárias foram eliminadas nos testes preliminares, sendo desnecessária a sua inclusão para os objetivos que tínhamos em vista.

Para as conclusões finais baseamo-nos em 5 repetições realizadas para cada uma das formulações apresentadas no Quadro I. A formulação n.º 16 foi tomada como padrão, a de n.º 11, como testemunha. Foram realizados, ainda, testes em branco, isto é, sòmente com circulação de ar, sem emprêgo de fumaças, para verificar a influência do movimento do ar na atividade dos mosquitos e a interferência das batidas que damos no tubo para orientar os insetos.

QUADRO I

Amostras selecionadas para os testes

Ref. amostra n.º	11	12	13	14	16	49	47	55	56
mg Piretrinas/100 g esp....	0	25	50	75	125	25	25	50	40
mg But. Pip./100 g esp....	0	0	0	0	0	125	200	250	400
Relação Piret.–But. Pip....	—	—	—	—	—	1:5	1:8	1:5	1:8

ANÁLISE DOS RESULTADOS

Dados coletados — Os resultados das 5 repetições realizadas para cada amostra constam do Quadro II.

QUADRO II

Resultados das 5 repetições para cada amostra, percentagem de fuga por tempo de entrada do repelente

Repetições	Tempos	Amostras (tratamentos)								
		11	12	13	14	16*	49	47	55*	56*
I	1′	35,8	24,1	33,4	28,0	65,2	44,5	5,9	72,6	13,7
	2′	39,4	38,0	47,5	48,0	52,0	44,5	47,0	58,7	45,5
	3′	39,4	55,0	66,8	84,0	56,5	40,8	47,0	58,7	50,0
	4′	42,8	41,5	71,4	88,0	74,0	63,0	70,5	69,0	59,0
	5′	39,4	62,1	66,8	84,0	83,0	59,3	76,5	69,0	63,5
II	1′	31,9	39,2	52,0	18,2	61,0	22,1	44,0	56,7	66,6
	2′	31,9	39,2	60,0	31,8	69,5	14,8	62,0	70,0	76,0
	3′	45,5	46,5	68,0	41,0	69,5	33,4	66,6	66,7	81,0
	4′	31,9	60,6	64,0	77,0	69,5	26,0	—	73,3	90,5
	5′	45,5	67,7	80,0	86,5	69,5	44,5	—	66,7	90,5
III	1′	35,2	42,0	39,1	8,7	60,0	27,0	39,2	36,0	52,0
	2′	41,0	42,0	52,2	61,0	65,0	42,5	47,8	52,0	59,0
	3′	29,4	55,0	61,0	86,5	70,0	46,0	74,0	52,0	68,0
	4′	—	77,5	69,5	86,5	85,0	57,7	74,0	68,0	82,0
	5′	—	77,5	—	—	85,0	42,5	82,6	76,0	86,5
IV	1′	52,5	30,8	37,5	45,9	66,5	37,0	55,5	39,0	58,4
	2′	62,0	34,6	56,4	66,8	72,0	55,5	64,0	50,0	66,5
	3′	71,5	42,4	56,4	65,0	78,0	66,5	74,0	72,0	66,5
	4′	71,5	42,4	62,5	66,8	89,0	66,5	85,0	78,0	75,0
	5′	57,2	69,2	62,5	79,0	—	70,5	78,0	78,0	83,5
V	1′	41,0	41,5	41,1	61,5	56,7	27,2	39,4	33,2	40,0
	2′	41,0	44,7	46,0	54,0	76,6	45,5	60,8	55,5	40,0
	3′	—	44,7	64,8	61,5	83,5	68,2	68,0	66,5	65,0
	4′	—	44,7	69,5	73,0	90,0	68,2	68,0	66,5	65,0
	5′	—	72,5	82,5	88,5	93,5	68,2	53,5	78,0	55,0

* As médias destas amostras incluem os resultados de uma 6ª repetição que não consta dêste Quadro.

Para os testes em branco, foram realizadas 3 repetições que constam do Quadro III.

QUADRO III

Percentagens de fuga do teste em branco

Tempo	Repetições			Média
	I	II	III	
1′	15,0	23,8	21,1	19,97
2′	24,0	20,3	26,0	23,43
3′	20,0	9,6	37,0	22,20
4′	40,0	28,6	33,4	34,00
5′	49,0	33,4	33,4	38,60

Comparação das linhas de regressão — No cálculo das linhas de regressão, seguimos a orientação de FINNEY (1952) e BUSVINE (1957). Na transformação dos dados, tomamos o tempo de ação do repelente (aqui usado como uma medida de dosagem), substituindo-o pelo seu logarítmo, acrescido de 1 unidade (para evitar características negativas no decorrer dos cálculos), sendo êstes nossos valores de "*x*". A percentagem de fuga, isto é, a proporção dos insetos, que reagem ao repelente, foi transformada em probit que é uma unidade baseada na integração da curva normal de distribuição. São êstes nossos valores de "*y*".

Com os resultados do teste em branco (Quadro IV), obtivemos um fator de correção da percentagem de fuga, por meio da divisão das percentagens médias de fuga pelos respectivos tempos, tirando depois a média dos 5 tempos:

$$(19{,}97/1 + 23{,}43/2 + 22{,}20/3 + 34{,}00/4 + 38{,}60/5) \div 5 = 11{,}06\%/\text{min}.$$

Êste resultado é uma avaliação aproximada da proporção de insetos que, em cada minuto, reagem à simples passagem da corrente de ar e às batidas no tubo, independentemente de ação do repelente.

A dedução dêste fator foi feita aplicando a fórmula de Abbott, usada aqui num sentido especial:

$$P = \frac{P_1 - C}{100 - C} \times 100$$

(P = % de fuga corrigida; P_1 = % de fuga observada; C = fator de correção = 11,06%/minuto).

Os cálculos das linhas de regressão foram feitos sôbre a média aritmética dos resultados das 5 repetições (Quadro IV).

QUADRO IV

Percentagem de fuga média das 5 repetições

Amostra n.º	Tempo de ação do repelente					Número médio de mosquitos
	1′	2′	3′	4′	5′	
11	39,28	43,06	46,45	48,73	47,37	22
12	35,52	39,70	48,72	53,36	69,89	29
13	49,62	52,42	63,40	67,38	72,95	21
14	32,46	52,32	67,60	78,26	84,50	24
16*	60,58	67,18	73,75	81,50	82,75	21
49	31,56	36,56	50,98	56,28	57,0	26
47	36,80	56,32	65,92	74,37	72,65	24
55*	43,08	56,45	64,73	69,73	71,78	23
56*	45,32	55,66	65,91	71,75	75,67	22

* Médias de 6 repetições pelo menos para os 3 primeiros tempos.

Com êstes dados, organizamos, para cada amostra, os quadros para o cálculo das linhas de regressão. Para êste cálculo, foram aplicadas as seguintes fórmulas (BUSVINE, 1957):

Cálculo de regressão:

$$1.\ \bar{x} = \frac{\Sigma\, wx}{\Sigma\, w} \qquad 2.\ \bar{y} = \frac{\Sigma\, wy}{\Sigma\, w} \qquad 3.\ b = \frac{\Sigma\, wxy - \bar{x}\,\Sigma\, wy}{\Sigma\, wx^2 - \bar{x}\,\Sigma\, wx}$$

$$4.\ y = (\bar{y} - b\bar{x}) + bx \quad \text{(eqüação de regressão)}$$

Cálculo da variância:

$$5.\ V = \frac{1}{b^2}\left[\frac{1}{\Sigma\, w} + \frac{(m - x)^2}{\Sigma\, wx^2 - \dfrac{(\Sigma\, wx)^2}{\Sigma\, w}}\right]$$

Teste de homogeneidade (teste de χ^2)

$$6.\ \chi^2 = (\Sigma\, wy^2 - \bar{y}\,\Sigma\, wy) - b\,(\Sigma\, wxy - \bar{x}\,\Sigma\, wy)$$

Limites fiduciais para os valores calculados de x (95% de fé)

$$7.\ m \pm 1{,}96\ V$$

(w = coeficiente de pêso, dado em tabela e que inclui o número de insetos utilizados para cada formulação; m = valor de x para y = 5.0, i.é., 50% de fuga).

AMOSTRA 11

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	22	39,28	31,70	1,000	4,53	12,8
2'.....	22	40,06	35,98	1,301	4,64	13,2
3'.....	22	46,45	39,79	1,477	4,75	13,5
4'.....	22	48,73	42,36	1,602	4,80	13,8
5'.....	22	47,37	40,83	1,699	4,77	13,9

$\bar{x}$ = 1,4232 $\bar{y}$ = 4,7009 b = 0,3896

Equação de regressão: y = 4,1464 + 0,3896 x

para y = 4,33 (=25%), x = 0,47119

para y = 5,00 (=50%), x = 2,19088

Variância: V = 0,1062 x^2 = 0,046

Limites fiduciais: m (50%) = 2,19088 ± 0,2081

AMOSTRA 12

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	29	35,52	27,50	1,000	4,40	16,2
2'.....	29	39,70	32,20	1,301	4,53	17,9
3'.....	29	48,72	42,34	1,477	4,80	18,2
4'.....	29	53,36	47,56	1,602	4,94	18,5
5'.....	29	69,80	67,58	1,699	5,44	18,4

$\bar{x} = 1,426 \quad \bar{y} = 4,834 \quad b = 1,339$
Equação de regressão: $y = 2,925 + 1,339\ x$
para $y = 4,33$ (= 25%), $x = 1,04929$
para $y = 5,00$ (= 50%), $x = 1,54966$
Variância: $V = 0,0063\ x^2 = 2,292$
Limites fiduciais: m (50%) = $1,54966 \pm 0,0123$

AMOSTRA 13

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	21	40,62	33,19	1,000	4,56	12,2
2'.....	21	52,42	46,50	1,301	4,91	13,3
3'.....	21	63,40	58,85	1,477	5,22	13,2
4'.....	21	67,38	63,32	1,602	5,34	12,9
5'.....	21	72,95	69,58	1,699	5,52	12,2

$\bar{x} = 1,417 \quad \bar{y} = 5,111 \quad b = 1,361$
Equação de regressão: $y = 3,183 + 1,361\ x$
para $y = 4,33$ (= 25%), $x = 0,84276$
para $y = 5,00$ (= 50%), $x = 1,33505$
Variância: $V = 0,0323\ x^2 = 0,116$
Limites fiduciais: m (50%) = $1,33505 \pm 0,0633$

AMOSTRA 14

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	24	32,46	24,01	1,000	4,30	13,4
2'.....	24	52,32	46,39	1,301	4,95	15,3
3'.....	24	67,60	63,57	1,477	5,35	14,8
4'.....	24	78,26	75,56	1,602	5,69	13,4
5'.....	24	84,50	82,57	1,699	5,93	12,1

$\bar{x} = 1,408 \quad \bar{y} = 5,225 \quad b = 2,328$
Equação de regressão: $y = 1,921 + 2,328\ x$
para $y = 4,33$ (= 25%), $x = 1,02642$
para $y = 5,00$ (= 50%), $x = 1,31186$
Variância: $V = 0,0031,\ x^2 = 0$
Limites fiduciais: m (50%) = $1,31189 \pm 0,0061$

AMOSTRA 16

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	21	60,58	55,68	1,000	5,15	13,4
2'.....	21	67,18	63,10	1,301	5,32	12,6
3'.....	21	73,75	70,49	1,477	5,53	11,7
4'.....	21	81,50	79,20	1,602	5,80	11,2
5'.....	21	82,75	80,60	1,699	5,88	9,9

$\bar{x} = 1{,}392 \quad \bar{y} = 5{,}509 \quad b = 1{,}056$
Equação de regressão: $y = 4{,}039 + 1{,}056\ x$
para $y = 4{,}33$ (= 25%), $x = 0{,}27557$
para $y = 5{,}00$ (= 50%), $x = 0{,}91004$
Variância: $V = 0{,}0153\ \chi^2 = 0{,}339$
Limites fiduciais: m (50%) = $0{,}91004 \pm 0{,}0299$

AMOSTRA 49

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	26	31,56	23,05	1,000	4,26	13,1
2'.....	26	36,56	28,67	1,301	4,45	15,6
3'.....	26	50,98	44,88	1,477	4,87	16,3
4'.....	26	56,28	50,84	1,602	5,02	16,5
5'.....	26	57,00	51,65	1,699	5,05	16,6

$\bar{x} = 1{,}435 \quad \bar{y} = 4{,}754 \quad b = 1{,}285$
Equação de regressão: $y = 2{,}910 + 1{,}285\ x$
para $y = 4{,}33$ (= 25%), x 1,10506
para $y = 5{,}00$ (= 50%), $x = 1{,}62646$
Variância: $V = 0{,}0127\ \chi^2 = 0{,}035$
Limites fiduciais: m (50%) = $1{,}62646 \pm 0{,}0249$

AMOSTRA 47

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	24	36,80	28,94	1,000	4,44	13,9
2'.....	24	56,32	50,89	1,301	5,03	15,3
3'.....	24	65,92	61,68	1,477	5,30	14,8
4'.....	24	74,37	71,18	1,602	5,56	13,9
5'.....	24	72,65	69,25	1,699	5,50	13,4

$\bar{x} = 1{,}412 \quad \bar{y} = 5{,}163 \quad b = 1{,}169$
Equação de regressão: $y = 3{,}512 + 1{,}169\ x$
para $y = 4{,}33$ (25%), $x = 0{,}69974$
para $y = 5{,}00$ (50%), $x = 1{,}27288$
Variância: $V = 0{,}0132\ \chi^2 = 3{,}262$
Limites fiduciais: m (50%) = $1{,}27288 \pm 0{,}0259$

AMOSTRA 55

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	23	43,08	35,98	1,000	4,64	14,2
2'.....	23	56,45	51,03	1,301	5,03	14,6
3'.....	23	64,73	60,34	1,477	5,26	14,4
4'.....	23	69,73	65,97	1,602	5,41	14,2
5'.....	23	71,78	68,27	1,699	5,47	13,4

$\bar{x} = 1{,}412 \quad \bar{y} = 5{,}158 \quad b = 1{,}222$

Equação de regressão: $y = 3{,}433 + 1{,}222\ x$

para $y = 4{,}33$ (= 25%), $x = 0{,}73431$

para $y = 5{,}00$ (= 50%), $x = 1{,}28275$

Variância: $V = 0{,}0119\ x^2 = 0{,}047$

Limites fiduciais: m (50%) = $1{,}28275 \pm 0{,}0233$

AMOSTRA 56

Tempo	N.º Culex	% fuga	Correção % fuga	log (+1) tempo	Probit	Pêso
				x	y	w
1'.....	22	45,32	38,52	1,000	4,71	13,2
2'.....	22	55,66	50,15	1,301	5,01	14,0
3'.....	22	65,91	61,67	1,477	5,30	13,5
4'.....	22	71,75	68,24	1,602	5,48	13,2
5'.....	22	75,67	72,64	1,699	5,60	12,3

$\bar{x} = 1{,}411 \quad \bar{y} = 5{,}213 \quad b = 1{,}294$

Equação de regressão: $y = 3{,}387 + 1{,}294\ x$

para $y = 4{,}33$ (= 25%), $x = 0{,}72875$

para $y = 5{,}00$ (= 50%), $x = 1{,}24652$

Variância: $V = 0{,}0131\ x^2 = 2{,}079$

Limites fiduciais: m (50%) = $1{,}24652 \pm 0{,}0257$

Comparamos as linhas de regressão, tomando como base os valores calculados do tempo necessário para cada amostra determinar a fuga de 50% dos mosquitos. Êste valor julgamos ser análogo ao LD 50 para efeitos toxicológicos, parecendo-nos ser bem representativo para o tipo de teste realizado. O Quadro VI apresenta êstes valores de 50% de fuga, com os tempos calculados pelas equações de regressão (figs. 4, 5, 6).

QUADRO V

Amostra	Valor calculado do tempo para 50% de fuga	
	log (+1) do tempo	tempo*
11	2,19088	15,52′
12	1,54966	3,54′
13	1,33505	2,16′
14	1,31189	2,05′
16	0,91004	0,81′
49	1,62646	4,23′
47	1,27288	1,87′
55	1,28275	1,92′
56	1,24652	1,76′

* Os antelogarítmos são determinados após diminuir 1 unidade da característica do logarítmo.

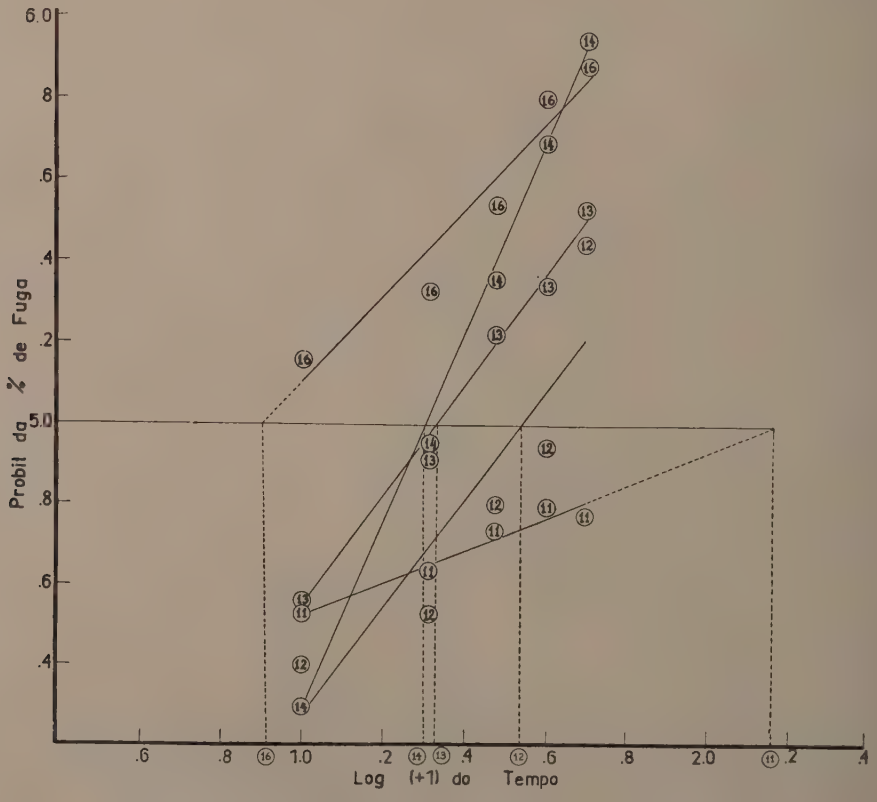


Fig. 4 — Linhas de regressão das amostras: 11, 12, 13, 14 e 16, com o ponto de 50 % de fuga assinalado. Grupo das amostras contendo Piretro puro com a testemunha (11).

Conclusões: Da observação das figs. 4, 5, 6 e do Quadro V, verifica-se:

1) No primeiro minuto, os resultados são confusos. O efeito inicial varia indicando haver defeitos na diluição das fumaças, até ser atingida a concentração certa e igual para tôdas as amostras; isto se dá em tôrno do 2.º minuto.

2) No final dos testes, após o 4.º minuto, parece haver alguma ação do repelente sôbre a capacidade de vôo dos mosquitos, impedindo-lhes a fuga. O grau de repelência da amostra 16 decai, porisso, nos 2 últimos minutos.

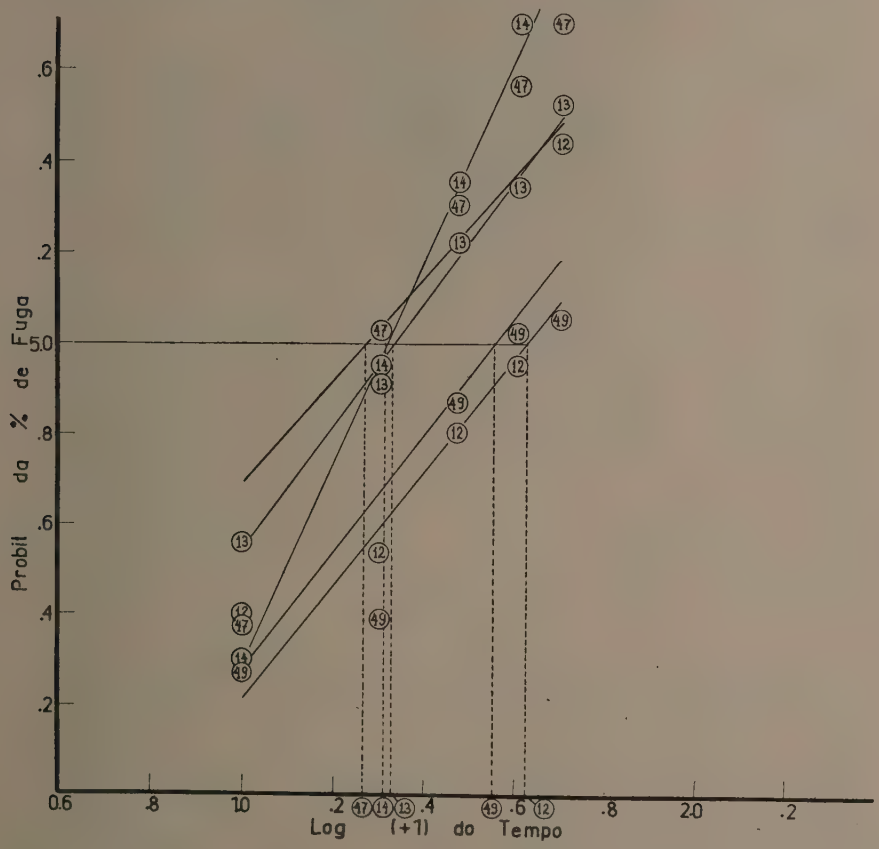


Fig. 5 — Linhas de regressão das amostras: 12, 13, 14, 49 e 47 com o ponto de 50% de fuga assinalado. Comparação das amostras com relação P.: B.P. = 1:5 e 1:8 com 25 mg piretro/100g e as correspondentes com Piretro puro.

3) Tôdas as formulações contendo piretro mostraram um efeito sôbre 50% de fuga muito mais acentuado que a amostra 11 (testemunha).

4) O efeito sinérgico do butóxido de piperonila na relação 1:5 foi pouco acentuado. Não agiu na amostra 49 que foi inferior à 12, mas teve influência sôbre a 55 que mostrou-se melhor que a 13 e, inclusive, superior à 14.

5) O efeito sinérgico na relação 1:8 mostrou-se excepcional na amostra 47 que superou a 14 no efeito de 50% de fuga. Na mesma relação (1:8), a amostra 56 superou tôdas as outras, exceto a 16, mas o efeito sinérgico foi menos acentuado que na 47.

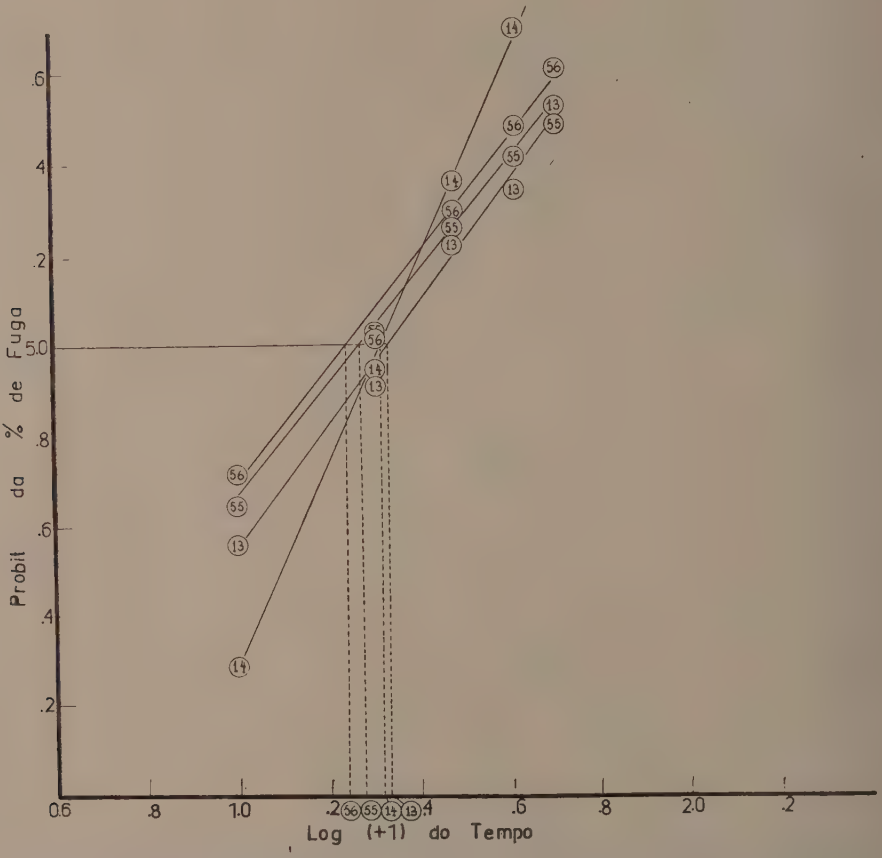


Fig. 6 — Linhas de regressão das amostras 13, 14, 55 e 56, com o ponto de 50% de fuga assinalado. Comparação das amostras com relação P.: B.P. = 1:5 e 1:8 com 50% mg piretro/100g e as correspondentes com piretro puro.

Análise da variância — Com o objetivo de comprovar os resultados obtidos pelo exame das linhas de regressão, analisamos a variância, tomando todos os dados das 9 amostras, com 5 tempos e 5 repetições, comparando então as médias dos 25 dados para cada uma das formulações testadas. Esta análise foi orientada pelo Dr. Alberto Penteado, da Secção de Estatística do Serviço Nacional de Pesquisas Agronômicas (S.N.P.A.), Estado do Rio de Janeiro.

Os dados foram também transformados, usando-se os probits no lugar da percentagem de fuga. Neste cálculo, não fizemos a correção da fuga pela fórmula de Abbott.

QUADRO VI

Valores da % de fuga (y) não corrigidos pela fórmula de Abbott, transformados em probits

Repetições	Tempos	Amostras (tratamentos)								
		11	12	13	14	16	49	47	55	56
I	1′	4,64	4,29	4,56	4,42	5,39	4,85	3,45	5,61	3,92
	2′	4,72	4,69	4,92	4,95	5,05	4,85	4,92	5,23	4,87
	3′	4,72	5,13	5,44	5,99	5,15	4,77	4,92	5,23	5,00
	4′	4,82	4,77	5,55	6,18	5,64	5,33	5,52	5,50	5,23
	5′	4,72	5,31	5,44	5,99	5,95	5,23	5,71	5,50	5,33
II	1′	4,53	4,72	5,05	4,08	5,28	4,23	4,85	5,18	5,44
	2′	4,53	4,72	5,25	4,53	5,50	3,96	5,31	5,52	5,71
	3′	4,87	4,90	5,47	4,77	5,50	4,56	5,44	5,44	5,88
	4′	4,53	5,28	5,36	5,74	5,50	4,36	5,61	5,61	6,28
	5′	4,87	5,47	5,84	6,08	5,50	4,85	5,71	5,44	6,28
III	1′	4,61	4,80	4,72	3,66	5,25	4,39	4,72	4,64	5,05
	2′	4,77	4,80	5,05	5,28	5,39	4,80	4,95	5,05	5,23
	3′	4,45	5,13	5,28	6,08	5,52	4,90	5,64	5,05	5,47
	4′	4,64	5,74	5,50	6,08	6,04	5,20	5,64	5,47	5,92
	5′	4,72	5,74	5,61	6,08	6,04	4,80	5,95	5,71	6,08
IV	1′	5,05	4,50	4,67	4,90	5,41	4,67	5,13	4,72	5,20
	2′	5,31	4,61	5,15	5,44	5,58	5,13	5,36	5,00	5,41
	3′	5,55	4,80	5,15	5,39	5,77	5,41	5,64	5,58	5,41
	4′	5,55	4,80	5,31	5,44	6,23	5,41	6,04	5,77	5,67
	5′	5,18	5,50	5,31	5,81	6,41	5,52	5,77	5,77	5,95
V	1′	4,77	4,77	4,77	5,28	5,18	4,39	4,72	4,56	4,75
	2′	4,77	4,87	4,90	5,10	5,74	4,87	5,28	5,13	4,75
	3′	4,82	4,87	5,39	5,28	5,95	5,47	5,47	5,41	5,39
	4′	4,85	4,87	5,50	5,61	6,28	5,47	5,47	5,41	5,39
	5′	4,85	5,58	5,92	6,18	6,48	5,47	5,08	5,77	5,39
Σ y		120,84	124,66	131,11	134,34	141,73	122,89	132,30	133,30	135,00
$\bar{y} = \frac{\Sigma y}{25}$		4,8336	4,9874	5,2444	5,3736	5,6692	4,9156	5,2920	5,3320	5,4000

QUADRO VII

Quadro da Variância

Influências	G.L.	S.Q.	Q.M.	
Total	224	59,493	—	—
Repetições	4	1,685	0,42125	4,01420**
Tratamentos	8	14,303	1,78787	17,03707***
Tempos	4	20,663	5,16575	49,22575***
Tempos × Tratamentos	32	4,373	0,13666	1,30227
Êrro	176	18,469	0,10494	—

C.V. 6,198%

Pela análise da variância verificamos que:

1) A influência dos tratamentos foi altamente significativa. Os tratamentos constituíram um fator primordial na variação observada no comportamento dos mosquitos submetidos aos testes.

2) A influência dos tempos foi também altamente significativa. A variação do tempo de ação dos repelentes é fator importante no aumento da repelência no decorrer dos testes.

Para a comparação dos resultados das formulações duas a duas, aplicamos o teste de "t" de Student. Empregamos o valor do êrro obtido na análise da variância (S = 0,10494). Os valores comparados foram as médias aritméticas dos probits da percentagem de fuga de cada tratamento ($\Sigma y/25$; Quadro VII). Apresentamos no Quadro IX o resumo das diferenças calculadas e excusamo-nos de apresentar tôdas as comparações possíveis, pois se torna òbviamente desnecessário.

QUADRO VIII

Comparação dos valores médios dos probits das percentagens de fuga, pelo teste de "t" de Student

Diferença entre os tratamentos	Não significativa	Significativa	Altamente significativa
$\bar{y}_{12} - \bar{y}_{11}$	+		
$\bar{y}_{13} - \bar{y}_{11}$			+
$\bar{y}_{13} - \bar{y}_{12}$		+	
$\bar{y}_{14} - \bar{y}_{13}$	+		
$\bar{y}_{16} - \bar{y}_{14}$		+	
$\bar{y}_{47} - \bar{y}_{12}$		+	
$\bar{y}_{47} - \bar{y}_{13}$	+		
$\bar{y}_{47} - \bar{y}_{14}$	+		
$\bar{y}_{55} - \bar{y}_{13}$	+		
$\bar{y}_{56} - \bar{y}_{13}$	+		

CONCLUSÕES FINAIS

Devemos encarar os resultados obtidos dentro dos limites determinados pela própria natureza dos testes. O aparelho empregado cria condições artificiais, tanto para a ação das fumaças produzidas na queima das espirais como para a reação dos mosquitos. Nestas condições êstes resultados permitem avaliar a capacidade de repelência relativa das diversas formulações quando comparadas entre si. É de se supor que em condições naturais de uso das espirais, a mesma relação se mantenha, mas ainda não temos dados experimentais para sustentar esta suposição.

Verificamos pela análise da variância e os resultados comparativos do teste de "t" (Quadro VIII), que se confirmam de uma forma geral as indicações fornecidas pela observação das linhas de regressão.

Podemos portanto, concluir:

1) A repelência cresce com o aumento do teor em piretro.

2) Tanto o teste de "t" como a comparação dos tempos para 50% de fuga não indicam diferenças apreciáveis entre as amostras 13 e 14. Devemos supor que o aparelho não apresenta sensibilidade suficiente para distinguir diferenças inferiores a 50 mg de Piretro para 100 g de espiral.

3) A amostra *12* foi muito superior à testemunha (11) no efeito de 50% de fuga, mas não se distinguiu desta pelo teste "t", devido às alterações decorrentes dos 2 primeiros minutos de funcionamento do aparelho.

4) A amostra *49* não se diferenciou da *12*, logo a relação Piretro: Butóxido de Piperonila (P.: B.P.) = 1:5, com 25 mg de Piretro para 100 g de espiral, não indica eficiência. Nesta relação não houve efeito sinérgico.

5) A amostra *47* é altamente superior à *12* e tem efeito comparável às *13* e *14*. Logo a relação P: B.P. = 1:8, com 25 mg de Piretro para 100 g de espiral, indica elevado efeito sinérgico.

6) A amostra *55* não se distingue da *13*, confirmando a asseveração do item 5, também para o nível de 50 mg de Piretro para 100 g de espiral.

7) A amostra *56* é superior às *13* e *14*, sem atingir ainda ao nível da amostra *16*. Como o teste de "t" não indica diferença significativa entre as referidas amostras, sendo esta apreciável apenas pelo efeito de 50% de fuga, verificamos que para 50 mg de Piretro para 100 g de espiral, a relação P: B.P. = 1:8, apresentou efeito sinérgico menos acentuado que na amostra *47*.

SUMMARY

The use of repellent smokes against mosquitoes is common all over Brazil, and in several other countries. The smoke is produced by burning the mosquito repellent coil (or spiral). The coils are made on the basis of ground pyrethrum flowers, activated with piperonyl butoxide, and mixed with sawdust of hard and soft wood, plus glue, which is generally manioc flour. These ingredients are mixed into a thick mash, which is pressed into the form of a flat band, and with special presses pressed into the form of coils. These coils are afterwards hardened by a temperature of 48/50 °C.

There are no former experiments undertaken in this field. The tests were made with coils: 1) containing only inert materials (for comparison); 2) coils containing only ground pyrethrum (plus the inert materials); 3) coils containing ground pyrethrum and piperonyl butoxide, in varying quantities and proportions.

In order to arrive at a conclusion as to the synergic effect of the piperonyl butoxide on the pyrethrum, the tests were made with the olphathometer of Geigy & Utzinger (1953), and with this as a central part of the test apparatus, was build up a special test plant (figs. 1, 2, 3).

The tests were carried out with the Culicid *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, females 4-5 days old.

The data were analyzed by comparison of the regression lines calculated according to FINNEY (1952) as proposed by BUSVINE (1957). The time required for the 50% escape, determined by the different repellents, was taken as basis of this analysis. A variance analysis and a Student's "t" test, applied to the arithmetical means computed to each formulation, checked the results of the comparison of the regression lines.

According to the tests, the following conclusions were arrived at:

1) The inclusion of pyrethrum extract in the coil increases the repellent effect of the smokes;

2) There is no synergic effect in the relation 1: 5, neither with 25, nor with 50 mg pyrethrum/100 g coils.

3) The formulation including 25 mg pyrethrum with 200 mg/100 coils piperonyl butoxide was comparable to those with 50 and 75 mg of pyrethrum, which proves that the synergic effect of the piperonyl butoxide in the relation of 1: 8 between pyrethrins and piperonyl butoxide is excellent.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROWN, A. W. A., 1958, *Insecticide resistence in Arthropods*. 240 pp., Monograph Series n.º 38. World Health Organization, Geneva.

BUSVINE, J. R., 1957, *A critical review of the techniques of testing insecticides*. IX + 208 pp., 50 figs., Comm. Inst. Ent., London.

CHANDLER, S. E., 1952, Applications of Pyrethrum in public health and related fields. *Pyrethrum Post*, 1 (3): 2-6.

DETHIER, V. G., 1947, *Chemical insect attractants and repellents*. XV + 289 pp., 69 figs. Blakiston Co., Philadelphia.

ELLIOT, M., 1951, The insecticidal activity of the pyrethrins and related compounds. *Pirethrum Post*, 2 (3): 18-28, 3 figs.

FINNEY, D. J., 1952, *Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve*, 318 pp., Cambridge Univ. Press, London.

FINNEY, D. J., 1952, *Statistical methods in biological assay*. XIX + 661 pp., Griffin Ed., London.

GEIGY, R. & UTZINGER, G. E., 1953, Konstitution und insektenbhaltende Wilkung neuer Amide und die verwendeten Testmethoden. *Acta Tropica*, 10 (4): 349-360, 1 fig.

METCALF, R. L., 1955, *Organic insecticides — their chemistry and mode of action*. IX + 392 pp., 7 figs. Interscience Pub., N. Y.

PAGE, A. B. P., 1948, Synergists. *Pyrethrum Post*, 1 (2): 7-9.

PAL, R., 1953, Use of pyrethrum in malaria control. *Pyrethrum Post*, 3 (2): 6-9.

RACHOU, R. G., 1958, Algumas manifestações de resistência de comportamento de insetos aos inseticidas no Brasil. *Rev. Brasil. Malariol. e Doenças Trop.*, 10 (3): 278-290.

RACHOU, R. G. & LIMA, M. M., 1953, Contribuição ao conhecimento dos hábitos domiciliários do *Culex fatigans* no sul do Brasil. *Rev. Brasil. Malariol. e Doenças Trop.*, 5 (1): 29-34.

U. S. DEPT. OF AGRIC., 1958, Insecticide recommendations of the Entomology Research Division for the control of insects attacking crops and livestock. *Agriculture Handbook* n.º 120.

WRIGHT, R. H., 1957, A theory of olfaction and of the action of mosiquito repellents. *Canad. Ent.*, 89 (11): 518-528, 6 figs.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 37-44
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

FURTHER NOTES ON NEOTROPICAL CERATOPOGONIDAE (Diptera) [1]

J. LANE
Faculdade de Higiene e Saúde Pública, São Paulo

(With one text-figure)

In this paper, dealing with several genera of *Ceratopogonidae,* we describe as new a species of *Macropeza* and two of *Bezzia*. The allotype of *Heteromyia nigra* Kieffer, 1917 is selected and the range of twenty known species extended, some of them considerably.

Macropeza brasiliae sp. n.

Length of wing 3,2 mm.

Female — Head: Mouth parts blackish. Palpus blackish, segments II and IV about the same length and a little longer than broad, III about twice as long as broad, V a little longer than IV. Clypeus blackish. Antenna with dark brown scape and torus; flagellum with segment I about two and a half times as long as wide, II to VIII fusiform and one and a half times as long as wide, IX to XIII long, their combined length nearly twice that of I to VIII. Occiput shining black (the head of this specimen was lost through an accident and only the flagellum is left).

Thorax shining black. Mesonotum narrowed in front and covered with very short brown hairs.

Wing hyaline, C. reaching 0.9 of wing-length. M.2 joining M.1 nearly the length of r-m basally. Fork of Cu. slightly beyond that of M. Haltere with white stem and blackish knob.

Legs elongated, specially the hind ones. Dark brown except the anterior femur which is yellowish on the basal two thirds. The apical third of fore femur is perceptibly thickened. Tarsi I and II yellowish, the segments gradually

[1] Received for publication January 3, 1961.
From the "Departamento de Parasitologia (Dir.: Prof. Dr. J. O. Coutinho), Faculdade de Higiene e Saúde Pública, Universidade de S. Paulo", Brasil.

darkening to apex. Segment IV cylindrical. V with five to seven pairs of batonnets. Claws nearly as long as segment V and bearing a large external tooth. T.R. a little over 2.

Abdomen about three times the length of thorax, somewhat flattened, shining black. Cerci very small.

Male — Unknown.

Type — Holotype female. Registered under n. 14.357.

Type locality — BRAZIL, Brasilia, D.F., V. 1957 (Barros & Albuquerque col.).

Note — Although not fitting the diagnosis of the genus *Paryphoconus* in all characters, we have decided to transfer our *Macropeza neotropicalis* Lane, 1948 to it, due to its unarmed fifth tarsus. The costal vein reaches the wing tip but the thorax, although narrowed in front, is not straightened to the extent generally found in most species of *Paryphoconus*. Such being the case, *Macropeza brasiliae*, here described, remains the only species of this genus reported for the Neotropical Region at present.

Nilobezzia amnicola (Macfie, 1940)

1940 *Bezzia* Macfie, *Ent. Mo. Mag.*, 76: 30.
1958 Lane, *Rev. Brasil. Ent.*, 8: 28.
1959 *Sphaeromias* (*Nilobezzia*) Wirth, *Deut. ent. Z.*, 6: 236.

Distribution — BRAZIL, State of S. Paulo, Paranapanema rv. Ilha Sto. Inacio, II.1952 (O. P. Forattini col.) (A single female).

Nilobezzia banksi (Gerry, 1933)

1933 *Bezzia* Gerry, *Psyche*, 40: 94.

Five females. In our specimens the mesonotum in completely pruinose and the number of spines on fore femur from seven to nine.

Distribution — PANAMA, Prov. Panama, Aguadulce Cocle, 21-XI-1952; C.Z., Ft. Sherman, Mojinga Swamp, 14-VII-1952 (F. S. Blanton col.); U.S.A., Texas, Cameron Co., Olminto, V-1942 (B. Brookman col.); La., Lake Prov., 14-VII-1953 (W. W. Wirth col.).

Clinohelea barrettoi Lane & Duret, 1954

1954 *Clinohelea* Lane & Duret, *Dusenia*, 5: 249.

A second female of this very rare species.

Distribution — BRAZIL, State of Pará, Cachimbo air-strip, VI.1956 (Travassos & Adão col.).

Clinohelea damascenoi Lane & Duret, 1954

1954 *Clinohelea* Lane & Duret, *Dusenia*, 5: 250.

Distribution — PERU, Iquitos, III-IV-1931 (R. C. Shannon col.) (One female).

Clinohelea horacioi Lane, 1944

1944 *Clinohelea* Lane, *Rev. ent.*, 15: 257; 1946 Lane, ibd., 17: 211.

In a few Panamanian specimens the haltere is quite dusky and in two of them the knob is blackish, otherwise they agree with type. We have, however, fourteen specimens with a very dark hind femur and with a restricted yellow portion.

Distribution — COSTA RICA, San Mateo, Higuito, (Pablo Schild col.) twenty-three specimens; HONDURAS, La Ceiba, IX.1926 (F. J. Dyar col.) one specimen; JAMAICA, Newport, II.1937 (Chapin & Blackwelder col.) one specimen; PANAMA, C. Z., Ft. Sherman, Mojinga Swamp, XII.1951 thirteen specimens; Loma Borracha, VII.1952 and X.1951 three specimens; Ft. Davis, VIII.1952 one specimen; Ft. Kobbe, VII.1952, one specimen; Mindi Dairy, VII.1952, one specimen; Mandinga rv. IV.1952 one specimen; Pilon, VIII.1952 one specimen; New Chagres, VIII.1952 one specimen; Rep. PANAMA, Prov. Panama, Aguadulce Cocle, VIII.1951, IX.1951 two specimens; P. Farallon, XI.1952 eight specimens; Tocumen, I.1952, II.1952 three specimens; Almirante, Bocas del Toro IV.1952, six specimens; Rio Hato Cocle, I.1952 one specimen; Prov. de Colon, Cativa, VII.1952, VIII.1952 three specimens; Prov. Anton, Coclo, XI.1952 four specimens; Prov. Darien, Patino Point, XI.1952 one specimen; Prov. Cocle, Pto. Obaldia, XI.1952 one specimen; Prov. Los Santos, Pto. Mensabe, V.1952 one specimen (F. S. Blanton col.). BRAZIL, State of Bahia, Pirajá, XII.1929 (R. C. Shannon col.) one specimen.

Clinohelea neivai Lane, 1944

1944 *Clinohelea* Lane, *Rev. ent.*, 15: 252; 1946 Lane, ibd., 17: 211.

Distribution — PANAMA, C. Z., Mojinga Swamp, XII.1951 one specimen; Rep. PANAMA, Prov. Panama, Agua Dulce, IV.1951 four males; Prov. Los Santos, Los mensales, IX.1951 one male (F. S. Blanton col.); BRAZIL, State of Rio de Janeiro, Araruama, VI.1948 (P. E. Vanzolini col.).

Clinohelea nigripes Macfie, 1939

1939 *Clinohelea* Macfie, *Rev. ent.*, 10: 205; 1944 Lane, ibd., 15: 250; 1946 Lane, ibd., 17: 210.

A common species in Panama.

Distribution — COSTA RICA, San Mateo, Higuito (Pablo Schild col.) three specimens. PANAMA, C. Z., Ft. Sherman, X.1951 one specimen; Mojinga Swamp, XII.1951 one specimen; Loma Borracha, X.1951 three specimens; Ft. Kobbe, VII.1952 one specimen; REP. PANAMA, Prov. Panama, Aguadulce Cocle, III.1951, two specimens; P. Farallon, XI.1952 four specimens; Tocumen, I.1951 one specimen; Almirante, Bocas del Toro, IV.1953 seven specimens; Divisa, XI.1952 one specimen; Prov. Colon, Cativa, V.1952 three specimens; Prov. Anton, Cocle,

XI.1952 seven specimens; Prov. Darien, Patino Point, VIII.1952 two specimens; Prov. Cocle, XI.1952 two specimens (F. S. Blanton col.); BRAZIL, State of Rio de Janeiro, Rezende, III.1947 (S. J. Oliveira col.) one specimen.

Clinohelea saltanensis Lane & Duret, 1954

1954 Lane & Duret, *Dusenia*, 5 (5/6): 253.

We have two additional females of this interesting species.

Distribution — BRAZIL, State of S. Catarina, Florianopolis, rv. Tavares, XII.1957 (J. Lane col.).

Clinohelea townsendi Lane, 1944

1944 *Clinohelea* Lane, *Rev. ent.*, 15: 256; 1946 Lane, ibd., 17: 211.

A series of seven specimens from Panama, Almirante, Tocumen and Arraija have very dark leg markings and clypeus and may prove yet another species. The other specimens conform with our material.

Distribution — PANAMA, Prov. Panama, Almirante, IV.1953 three specimens, Tocumen, I. and III.1953 three specimens, Arraija, I.1952 two specimens (F. S. Blanton col.); C. Z. Mandiga rv., IV.1951 one specimen, Mojinga Swamp, VII.1952 and XI.1951 four specimens (F. S. Blanton col.); PERU, Iquitos, III-IV.1931 (R. C. Shannon col.) one specimen; rio Perene, Sta. Margarida, IV.1929 (Muczinsky-Godard col.) one specimen. BRAZIL, State of Bahia, Pirajá, XII.1929 (R. C. Shannon col.) two specimens.

Heteromyia castanea Lane, 1946

1946 *Heteromyia* Lane, *Rev. ent.*, 17: 214.

Another specimen of this rare species.

Distribution — BRAZIL, State of S. Paulo, Campinas, II.1941 (H. L. Parker col.).

Heteromyia correntina Duret & Lane, 1955

1955 *Heteromyia* Duret & Lane, *Dusenia*, 6: 39.

Eleven specimens which enlarge considerably the range of this species.

Distribution — REP. of PANAMA, Prov. Panama, Tocumen, III.1952, IX.1951 and XII.1951; Aguadulce Cocle, IX.1951 (F. S. Blanton col.).

Heteromyia nigra Kieffer, 1917

1917 *Heteromyia* Kieffer, *An. Mus. Nat. Hung.*, 51: 325.
1946 Lane, *Rev. ent.*, 17: 211.

A male and a female. The male has been here selected as the allotype of this species and is described below.

Allotype male — Similar to the female.

Genitalia (fig. 1): Basistyle nearly twice as long as broad, sparsely setose. Dististyle slightly shorter than the basistyle, curved at apex, with minute spicules and a few slender hairs apically. Other structures as in the figure.

Locality of allotype — BRAZIL, State of Rio Grande do Norte, Pitimbú river, VII.1943 (collector not known).

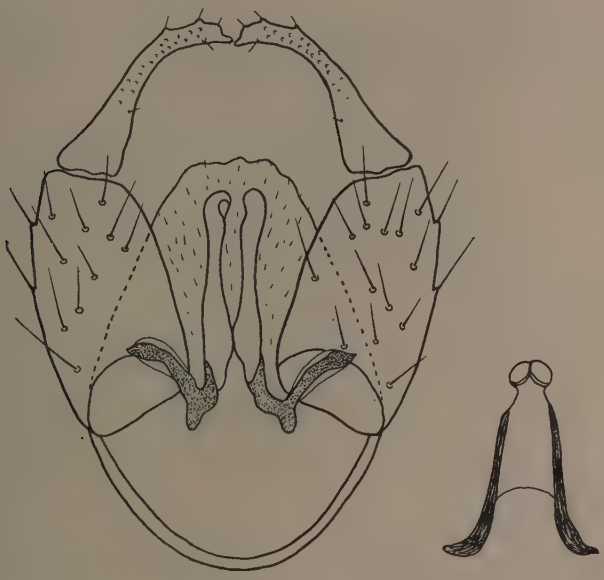


Fig. 1 — *Heteromyia nigra* Kieffer, 1917, genitalia.

Heteromyia rufa Kieffer, 1917

1917 *Heteromyia* Kieffer, *An. Mus. Nat. Hung.*, 51: 362.
1955 Duret & Lane, *Dusenia*, 6: 40.

Eight specimens.

Distribution — REP. of PANAMA, Almirante, Bocas del Toro, IV.1953 six specimens; Aguadulce Cocle, IX.1951 (F. S. Blanton col.) one specimen; Trinidad river, VI.1912 (A. Bysck col.) one specimen.

Palpomyia crassicrus Kieffer, 1917

1917 *Palpomyia* Kieffer, *An. Mus. Nat. Hung.*, 51: 320.

A single specimen showing more extensive markings on the hind femur which has the basal two thirds blackish.

Distribution — BRAZIL, State of S. Paulo, I.1948 (Travassos col.).

Palpomyia nigroscutellata Lane, 1947

A female which differs in the mesonotal marking which instead of being completely yellow has a triangular prescutellar black mark contiguous to scutellum.

Distribution — BRAZIL, State of Rio de Janeiro, Parque Nacional da Serra dos Orgãos, Teresópolis (1000 m alt.), 23-27.IV.1947 (P. Wygodzinsky col.).

Palpomyia sordidipes Macfie, 1939

1939 *Palpomyia* Macfie, *Rev. Ent.*, 10: 209.

Two females.

Distribution — BRAZIL, State of Pará, Cachimbo (400 m alt.), 14-21.IX.1955 (L. Travassos & S. J. Oliveira col.).

Palpomyia umbella Macfie, 1939

1939 *Palpomyia* Macfie, *Rev. Ent.*, 10: 208.

We have three specimens which agree with the original description except for the spines on front femur which are about five.

Distribution — BRAZIL, State of Mato Grosso, Salobra, VIII.1940 (Com. I.O.C. col.) and 22-27.I.1955 (Travassos, Barros and Albuquerque col.), State of Rio de Janeiro, Itaguaí, II.1945 (P. Wygodzinsky col.).

Pachyhelea pachymera (Williston, 1900)

1900 *Ceratopogon* Williston, *Biol. Cent. Amer.*, 1: 224 supl.
1914 *Probezzia* Malloch, *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 27: 137.
1959 *Pachyhelea* Wirth, *Bull. Brook. Ent. Soc.*, 44: 51.
syn. 1905 *Ceratopogon magnus* Coquillett, *J. N. Y. Ent. Soc.*, 13: 61.
1914 *Johannsenomyia magna* Malloch, *Bull. Il. St. Lab. N. H.*, 10: 227; 1915 ibd., 10: 338.
1917 *Sphaeromias albidiventris* Kieffer, *An. Mus. Nat. Hung.*, 15: 317.
1931 *Johannsenomyia latifemoris* Ingram & Macfie, *Dipt. Pat. & S. Chile*, 2: 231.

We have six specimens of this widely distributed species. In our specimens the head is apparently lighter in colour than in other specimens. The hind coxa is very much enlarged and blackish, while the mid femur has a larger portion of dark brown (about 3/4 the basal portion) and the thorax is nearly blackish. The transversal vein separating the two radial cells is minute and very weak. However, our specimens fit, in general, the descriptions which we have seen.

Distribution — RRAZIL, State of Rio de Janeiro, Itaguaí, km. 42 road from Rio to São Paulo, I and II.1945 (P. Wygodzinsky col.); four specimens, State of Mato Grosso, Salobra, I.1955 (Barros & Albuquerque col.).

Bezzia ateles Macfie, 1940

1940 *Bezzia (Crespinia?)* Macfie, *Proc. R. ent. Soc. London*, 9: 78.

We have a female which is here selected as the allotype of this species and described below.

Allotype — Similar to male but wing 2 mm in length. Haltere with whitish stem and blackish knob. The legs are dark brown. T. R. is the same.

Type — Allotype female. Registered under n. 14.350.

Locality of allotype — BRAZIL, Brasilia, D.F., V.1957 (Barros & Albuquerque col.).

Bezzia albuquerquei sp. n.

Length of body 2 mm.

Female — Mouth parts and palpus brown. Clypeus shining brown with a few hairs. Antenna sparsely covered with long, slender hairs; scape and torus yellowish; flagellum with segment I about one and a half times as long as wide, II to VIII a little shorter, all these segments fusiform; segments IX to XIII longer, their combined length is however shorter than that of II to VIII. Occiput blackish-brown with a mesial white longitudinal pruinose line.

Thorax: Mesonotum slightly shining blackish with two spots on each side formed by white pruinosity, the anterior one irregular, the posterior oblong; densely covered with very short black hairs. Scutellum shining blackish, with four longer marginal setae. Postnotum blackish. Pleura dark blackish-brown.

Wing hyaline. Costa ending at 0.7 of wing length. M.2 joining M.1 a little before r-m. Fork of Cu. distinctly beyond the fork of M. Haltere with white stem and brown knob.

Legs brown. Fore femur with a yellowish preapical band, its tibia with yellowish bands before base and at apex. Mid and hind legs unbanded. Tarsi yellowish. Segment IV cordiform. T.R. 2,5.

Abdomen shining blackish-brown, sparsely covered with slender yellow hairs.

Male — Unknown.

Types — Holotype female, paratypes two females. Registered under ns. 14.351 and 14.353.

Type locality — BRAZIL, Brasilia, D.F., V.1957 (Barros & Albuquerque col.).

Note — This species is named in honor of Dr. D. Albuquerque one of its collectors. In our key (LANE, 1958) it runs to dichotomy 20 but the coloration of the mesonotum and legs with indistinct bands on fore femur and tibia and the completely brown mid and hind ones separate it from *B. telmatophila* Macfie, 1940 and *B. ateles* Macfie, 1940.

Bezzia fluminensis Lane, 1948

1948 *Bezzia (Bezzia)* Lane, *Arch. Hig.*, 1: 236.
1958 *Bezzia* Lane, *Rev. Brasil. ent.*, 8: 31.

Distribution — BRAZIL, Brasilia, D.F., V.1957 (Barros & Albuquerque col.) (A single female).

Bezzia goianensis sp. n.

Length of wing 2,2 mm.

Female — Head: Mouth parts brown. Palpus yellowish the last two segments shorter than preceding one. Clypeus yellowish and bulging, with sparse hairs. Antenna with yellowish-brown scape and torus (flagellum missing). Occiput white, pruinose.

Thorax: Mesonotum with a distinct anterior spine; completely covered with white pruinosity except for three brown longitudinal stripes, the mesial one from anterior third to the prescutellar region, the lateral ones shorter and along the sides of the prescutellar region and reaching scutellum. Scutellum yellowish, pruinose. Postnotum with white pruinosity. Pleura white, pruinose.

Wing hyaline. Costa reaching 0.8 of wing length. M.2 joining M.1 at r-m. Cubital fork just a little beyond fork of M. Haltere whitish.

Legs: Coxae brown. Joints blackish. Fore femur yellow with a black band before base and another one before apex. Tibia yellow with a band before base and another at apex. Mid femur yellow with an apical black band, its tibia yellow with a black band before base and another narrower one at apex. Hind legs as mid ones but the femur dorsally darkened. Tarsi yellowish, segment IV more or less cordiform .T.R. 2,8.

Adomen elongated, yellowish, sparsely pilose. Cerci short and rounded.

Male — Unknown.

Type — Holotype female; registered under n. 14.354.

Type locality — BRAZIL, Brasilia, D.F., V.1957 (Barros & Albuquerque col.).

Note — This species runs in our key (LANE, 1958) to dichotomy 19, but the leg markings besides other characters separate it from the known species.

Bezzia lenkoi Lane, 1958

1948 *Bezzia (Bezzia)* Lane, *Arch. Hig.*, 8: 31.

A series of eight females and two males. The Panamanian specimen has much hairier legs.

Distribution — BRAZIL, Brasilia, D.F., V.1957 (Barros & Albuquerque col.). Rep. PANAMA, Nata, 20-XI-1952 (F. S. Blanton col.).

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 45-48
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

ACASALAMENTO DE RAINHAS COM VÁRIOS MACHOS EM DUAS ESPÉCIES DA TRIBU ATTINI (Hymenoptera, Formicoidea) [1]

WARWICK E. KERR
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras,
Rio Claro, São Paulo

Nos círculos científicos brasileiros a bionomia das saúvas (*Atta sexdens* (L.)) teve um notável incremento devido aos trabalhos de AUTUORI. Sôbre a revoada (vôo nupcial) das içás, AUTUORI (1949) relata o seguinte: a) que se dá de setembro a dezembro, em dias de calor úmido, após chuvas fortes; b) só formigueiros com mais de 3 anos são suficientemente maduros para poderem soltar içás e bitus; c) que as içás antes de entrarem em vôo nupcial retiram um pelotinho de fungo de aproximadamente 1 mm de diâmetro que conservarão na sua cavidade infra-bucal; d) a fecundação se dá durante o vôo. Sôbre o número total de machos e rainhas encontrados em formigueiros escavados AUTUORI (1950) observou o seguinte em *Atta sexdens rubropilosa*:

Sauveiros	Número de fêmeas aladas (içás)	Número de machos (bitu)	Proporção de ♂♂ para ♀
1.º	1 696	27 622	16,3 :1
2.º	4 684	7 624	1,6 :1
3.º	2 765	4 098	1,4 :1
4.º	5 177	7 873	1,5 :1
5.º	1 378	35 381	25,6 :1
6.º	3 202	7 896	2,4 :1
7.º	1 411	9 138	6,4 :1
Total	20 313	99 623	4,94:1

A proporção total foi de, pràticamente, 5 machos para uma fêmea, todavia essa proporção pouco indica, pois a variação encontrada foi desde 1,48 macho para 1 fêmea até 25,6 machos para 1 fêmea.

[1] Recebido para publicação a 18 de novembro de 1960.

A finalidade com que encetamos o trabalho foi a de fazer uma pequena contribuição para a bionomia de duas espécies de formigas, ambas da tribu *Attini*.

Agradecemos ao Dr. W. Kempf pela classificação de *Mycocepurus goeldii* (Forel).

MATERIAL E MÉTODOS

Coletamos içás e bitus de *Atta sexdens rubropilosa* nas revoadas de 14 de outubro de 1959 e de 18 de outubro de 1960 e contamos o número de espermatozóides encontrados na vesícula seminal dos machos ou na espermateca das fêmeas. Para evitar a possibilidade de um bitu ter fecundado uma rainha de maneira incompleta e ser computado com menos espermatozóides, só usamos os bitus coletados na bôca do formigueiro. Também, só usamos içás que já tinham eliminado suas asas, e portanto não iriam sofrer posteriores fecundações.

Para contagem dos espermatozóides usamos o método Jaycox, ou seja: esvasiamos a vesícula seminal, ou a espermateca, em 1 cc de uma solução aquosa a 2% de amido solúvel. Conforme a quantidade de espermatozóides, procedíamos a uma diluição de 11 cc, 14 cc ou 30 cc da mesma solução. Cada espermatozóide nessa solução forma um círculo, unindo cauda com cabeça, o que facilita sobremaneira a contagem. A contagem foi feita em seguida num hemacitômetro Levy-Hausser.

Fizemos, também, observações diretas em revoadas de *Mycocepurus goeldii* (Forel) ocorridas a 17-10-60.

RESULTADOS

Das nossas contagens de espermatozóides em *Atta sexdens* (L.) obtivemos os seguintes resultados:

Içá n.º 1 — 319.125.000	Bitu n.º 1 — 44.126.000
Içá n.º 2 — 206.500.000	Bitu n.º 2 — 80.134.000
Içá n.º 3 — 262.600.000	Bitu n.º 3 — 56.000.000
Içá n.º 4 — 226.270.000	Bitu n.º 4 — 58.800.000

Os bitus maiores tinham maior número de espermatozóides que os miúdos. Também, com alguma prática é fácil dizer, olhando a espermateca, se tem perto de 200 ou de 300 milhões de espermatozóides.

Aproveitamos a oportunidade para examinar o ovário dessas rainhas. Em média tinham 16 ovaríolos com óvulos insipientes e 22 sem óvulos, por ovário ou seja um total médio de 76 ovaríolos por içá.

Achamos interessante não encontrarmos espermatozóides nos ovidutos laterais e medianos (como acontece em tôdas as espécies de abelhas que dissecamos), porém só na espermateca. Isso sugere que os espermatozóides ou são depositados nela diretamente ou a própria pressão com que são introduzidos os conduz direta e ràpidamente à espermateca.

No dia 17-10-60, das 10 às 11,30 horas, tempo nublado, tendo chovido na noite anterior, observamos revoadas de fêmeas e machos de *Mycocepurus goeldii* (Forel). Às 12 horas pràticamente só machos voavam ao redor dos lugares onde antes pousavam as fêmeas. Às 13,30 horas estavam pousados nos galhos e às 16 horas tinham se dispersado. Normalmente as fêmeas voavam de formigueiros distantes não mais de 15 metros do formigueiro mãe (usualmente ao redor de 7 metros). Os machos, tanto quanto pudemos ver iam até 40 metros de distância. Numa área de 2.500 m² haviam 5 concentrações de enxames. As fêmeas normalmente ficavam pousadas num galho de planta de 30 até 100 cm de altura e os machos voavam ao redor da concentração de fêmeas num raio de 80 cm aproximadamente. Ocasionalmente vimos machos em vôo mudando de enxame.

A proporção dos sexos em um dos enxames era de 12,5 machos para cada fêmea (150 machos para 12 fêmeas). Por observação consecutiva de uma fêmea verificamos que ela foi inseminada por 4 machos. Após isso ela voou, e a perdemos no meio do enxame. Todavia, calculamos, pelo tempo que as rainhas permaneceram no enxame, que elas são fecundadas por no mínimo de 8 a 10 machos. Foi interessante encontrar num enxame de 150 machos desta espécie, 3 machos de, provàvelmente, *Mycocepurus reconditus* Borgm. Todavia, não observamos nenhum dêstes acasalando-se com as rainhas de *M. goeldii*.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Não conhecemos outro inseto com número de espermatozóides tão alto em sua espermateca como o encontrado em *Atta sexdens rubropilosa*. Mackensen & Roberts (1947) determinaram para *Apis mellifera* um número médio de 5 a 6 milhões de espermatozóides, o que foi muitas vêzes confirmado, inclusive por nós, visto a contagem de espermatozóides constituir rotina nos laboratórios em que se pratica inseminação artificial em rainhas de abelhas.

Uma conclusão interessante podemos tirar dêste trabalho: se as fêmeas de *Atta sexdens* (L.) têm de 206 a 320 milhões de espermatozóides nas espermatecas e os machos de 44 a 80 milhões, significa que cada rainha é fertilizada por 3 a 8 machos. Isto está de acôrdo com o número de bitus observados por Autuori, isto é, verificou que há muito maior quantidade de machos que de fêmeas que saem para uma revoada (1,5 até 25,6 machos por fêmea).

De certa maneira, as observações em *Mycocepurus goeldii*, que é da mesma tribu (*Attini*) que *Atta sexdens*, reforçam as conclusões indiretas tomadas para

esta última, pois verificou-se, por observação contínua de uma mesma fêmea, que esta foi fecundada consecutivamente por 4 machos e provàvelmente, ao perder-se da vista do operador, por outro tanto. A posição de cópula era do macho sôbre a fêmea; muitas vêzes quando um macho estava em cópula 3 ou 4 outros tentavam fazer o mesmo com a mesma fêmea.

SUMÁRIO

Observou-se direta e indiretamente o número de machos que fecundam rainhas de duas espécies da tribu *Attini*.

As rainhas (içás) de saúva (*Atta sexdens rubropilosa*) são inseminadas por 3 a 8 machos, conforme mostra a proporção de espermatozóides encontrados na espermateca (de 206 a 319 milhões) e nas vesículas seminais dos machos (bitus) (44 a 80 milhões).

Por observação direta viu-se que uma rainha de *Mycocepurus goeldii* foi inseminada consecutivamente por 4 machos.

SUMMARY

Queens of two species of *Attini* ants, namely *Atta sexdens rubropilosa* and *Mycocepurus goeldii*, are inseminated for three to eight males for occasion of the nuptial flight.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Autuori, M., 1949, Investigações sôbre a biologia da saúva. *Ciência e Cultura*, 1 (1-2): 4-12.

Autuori, M., 1950, Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* sp. Hymenoptera Formicidae). V. Número de formas aladas e redução dos sauveiros iniciais. *Arq. Inst. Biol.*, S. Paulo, 19: 325-331.

Mackensen, O. & Roberts, W. C., 1947, *A manual for artificial insemination of queen bees*. U.S.D.A., Div. Bee Culture.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 49-59
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

FARMACOLOGIA DA PRESSÃO ARTERIAL NA RÃ "LEPTODACTYLUS OCELLATUS". EFEITO INCONSTANTE DA ADRENALINA [1]

W. LADOSKY
Faculdade Nacional de Medicina, Rio de Janeiro, Guanabara

(Com 4 figuras no texto)

No curso de trabalho realizado com *Leptodactylus ocellatus,* tornou-se necessário o conhecimento da fisiologia e farmacologia da pressão arterial nesse animal. Surpreendentemente, uma revisão bibliográfica cuidadosa nos demonstrou que o problema não tinha merecido ainda atenção dos interessados no campo. As discrepâncias dos resultados da pressão arterial variando de gênero a gênero, entre os anuros, não nos permitia tirar conclusões para o nosso animal. Face ao problema, resolvemos estudar a questão, pois que a espécie em trabalho será naturalmente a manipulada pelos que, entre nós, venham a se interessar por êstes problemas.

Agradecimentos — Ao Professor Thales Martins agradecemos a orientação e a revisão dêste trabalho. Ao Dr. José Salino Brum, o auxílio técnico prestado. Aos laboratórios Parke-Davies e Roche somos gratos pelas drogas gentilmente fornecidas.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos exemplares adultos, machos e fêmeas, de *Leptodactylus ocellatus,* pesando entre 50 e 80 g, capturados nas cercanias do Rio de Janeiro. Uma vez chegados ao laboratório, mantidos em tanque com água corrente, e alimentados com baratas vivas, duas vêzes por semana. Os animais eram utilizados até, no máximo, 10 dias após a chegada ao laboratório.

Contenção — Para a contenção do animal, a fim de ser operado para a tomada de pressão, tentamos inicialmente mantê-lo apenas imóvel, pela injeção de Curare (Flaxedil), 0,2 mg por animal. As pressões dêstes animais, entre-

[1] Recebido para publicação a 2 de março de 1961.
Trabalho do Laboratório de Fisiologia da Faculdade Nacional de Medicina (Prof. Thales Martins) realizado com auxílios do Conselho Nacional de Pesquisas e do Conselho de Pesquisas da Universidade do Brasil.

tanto, nunca davam uma diferencial satisfatória, por motivos que discutiremos adiante, pelo que abandonamos a prática. Tentamos depois a destruição da medula pela introdução de estilete no canal raquiano. Também nestes, além de a diferencial ser bastante irregular, a preparação se mantinha por pouco tempo, talvez devido à hemorragia. Resolvemos, finalmente, trabalhar com a rã não anestesiada, fixada fortemente, por ataduras, a uma placa de madeira com o formato do animal, de modo a lhe impedir os movimentos. Mesmo assim, apesar de bastante atadas, as rãs de mais de 80 g ainda faziam movimentos capazes de dificultar a experiência. Demos preferência então aos exemplares entre 50 e 80 g, dos dois sexos.

Dissecação da veia abdominal — Após contenção mecânica do animal, incisão longitudinal na pele, seguindo a linha média ventral, desde a cintura pélvica até a ponta do apêndice xifóide. Rebatida a pele, eram dissecadas cuidadosamente as duas porções direita e esquerda do músculo reto do abdômen, ao longo da linha "alba" e à altura dos 3.º e 4.º septos transversais, tornando visível a veia abdominal; para as injeções, era introduzida e fixada uma agulha hipodérmica 25×8.

Dissecação do arco pulmocutâneo esquerdo — Incisão da pele em arco, do apêndice xifóide até o lado esquerdo da cintura escapular; posta a descoberto a musculatura, secção do peitoral e do córaco-braquial.

Em seguida, prolongada a incisão para diante até a cartilagem hióide, seguindo um trajeto paralelo à linha média-ventral, fazendo a secção do coracóide e da clavícula. Finalmente, uma incisão paralela à cartilagem hióide, possibilitando a remoção da massa muscular e deixando a descoberto o coração e os vasos da base. Removido o pericárdio e isolada a artéria pulmocutânea esquerda da crossa aórtica esquerda e ligadura no ponto em que ela emite a artéria pulmonar. Na porção proximal, pequena incisão para a introdução da cânula. Tomávamos sempre o cuidado de não permitir a entrada desta no bulbo aórtico, de maneira a prejudicar a passagem do sangue para o ramo direito do vaso, interferindo assim na circulação sistêmica.

Pressão arterial tomada em manômetro de mercúrio do tipo descrito por Dekanski (1952). Neste tipo de manômetro a pressão já é a pressão real existente no vaso e não a metade dela, como se obtêm nos aparelhos tipo Ludwig. Cânula enchida com líquido de Ringer. A fim de evitar a coagulação, após a dissecação do arco, injetávamos, na veia, 100 unidades de heparina Lutécia.

Drogas — As drogas empregadas e respectiva procedência constam da relação seguinte:

Adrenalina * Parke Davies; Acetilcolina * Roche; Atropina * Riedel; Curarisante (Flaxedil) Rhodia; Ergotamina Sandoz; Iproniasida (Marsilid) * Roche; Nicotina Merck; Nor-adrenalina * Byk Gulden; Prostigmina Roche; Tetraetilamônio (Etamon) Parke-Davies; Vasopressina bovina (Pitressin) Parke-Davies; Yoimbina * Riedel.

As drogas marcadas com asteriscos foram obtidas sob forma de pó e dissolvidas no momento de usar. As demais, já em solução, rediluídas, se necessário, no momento de uso. Procuramos sempre preparar as soluções finais de maneira tal que a dose a ser injetada estivesse diluída em 0,1 ml de solução Ringer.

RESULTADOS

Os valores normais da pressão arterial da rã, tomada num ramo direto da aorta, variaram para a sistólica de 46 a 35 mm e para a diastólica de 43 a 33 mm de mercúrio. A média da diferencial foi de 2 mm com limites entre 3 e 1 mm de mercúrio, no manômetro por nós utilizado.

I) Substâncias de ação parassimpática

As substâncias tanto parassimpaticomiméticas, como as parassimpaticolíticas, tiveram na rã a mesma ação que a comumente observada em mamíferos (fig. 1). Assim, a acetilcolina até dose de 0,1 μg/g foi capaz de baixar de maneira apreciável a pressão arterial, até cêrca de 38 mm, mantendo-se êste efeito por dois minutos, quando a pressão alcançava novamente o nível inicial. Esta queda, tanto da máxima como da mínima, acompanhava-se de bradicardia. A queda da máxima, entretanto, é mais acentuada, havendo desaparecimento da diferencial. Passado o efeito, a pressão voltava ao normal, sem fase de hipertensão e pràticamente com a mesma diferencial.

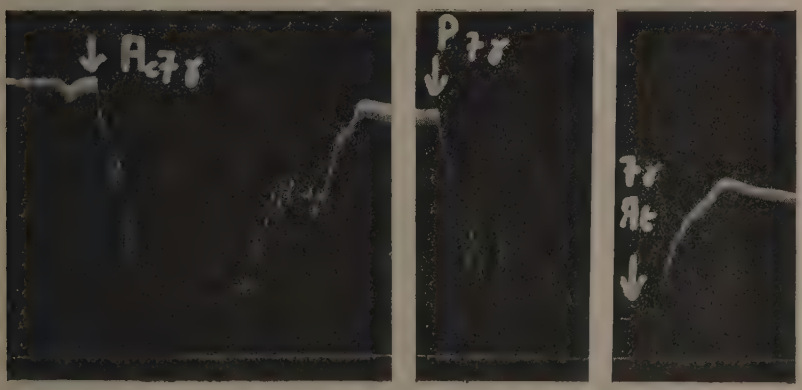


Fig. 1 — Rã 10 ♂ 70 g — Em Ac— acetilcolina 0,1 μg/g, P — prostigmina 0,1 μg/g, At — atropina 0,1 μg/g. Observe-se que os efeitos das substâncias de ação no sistema parassimpático são semelhantes aos descritos em mamíferos. Tempo 10 seg.

De 12 observações realizadas em 6 animais (Tabela 1), em 11 a acetilcolina teve nítido efeito hipotensor, e em 1, nulo.

Logo após injeção de atropina em dose de 0,2 μg/g havia uma discreta e fugaz elevação da pressão arterial (1,5 mm) no máximo, durante 5 segundos,

com aumento da diferencial. Esta dose bloqueiou sempre os efeitos da acetilcolina até um máximo de duas horas, tempo de maior observação.

TABELA 1

Efeito da acetilcolina 0,1 μg/g na pressão arterial da rã

	Número de animais	Experiências	Elevação	Queda	Sem efeito
AcCh.....	6	12	0	11	1
Atropina + AcCh.....	8	8	0	0	8

A prostigmina em dose de 0,1 μg/g provocava uma queda acentuada e permanente da pressão arterial, com bradicardia e perda da diferencial. Esta ação se faz provàvelmente através da AcCh endógena, pois aparece mesmo antes da injeção de acetilcolina e é anulada imediatamente pela Atropina, que restaura aos níveis anteriores a pressão arterial.

A nicotina, na dose de 0,1 μg/g não determinou qualquer efeito pressor, nem modificou o das substâncias injetadas a seguir; apareciam, entretanto, especialmente nos membros inferiores, pequenos clonos que se mantinham durante cêrca de 10 minutos. Na dose de 0,2 μg/g o efeito é uma acentuada e transitória hipotensão (17 mm, durante cêrca de 10 segundos). Voltando ao limite inicial, havia aumento apreciável da diferencial (9 mm), devido especialmente ao abaixamento da mínima, e taquicardia. Passados 5 minutos, tanto a pressão sistólica quanto a diastólica voltavam aos limites anteriores. A nicotina, nesta dose, não modificava a ação de qualquer das substâncias injetadas subseqüentemente.

Acima de 0,5 μg/g a droga determinava uma queda definitiva da pressão, com parada cardíaca definitiva, alguns minutos depois.

O Tetraetilamônio, utilizado apenas duas vêzes, em dose de 1 μg/g provocou queda definitiva. Esta queda, gradativa, tanto da máxima quanto da mínima, não era compensada pela adrenalina ou pela noradrenalina. A primeira, em dose 5 μg/g determinava apenas discreto aumento da diferencial, à custa da máxima; parada em diástole.

II) Substâncias de ação simpática

Como se vê na Tabela 2, a ação da A sôbre a pressão arterial é irregular, contraditória e fugaz. Também a N não tem efeito regular, diferindo, por vêzes no mesmo animal, da ação da A.

As variações observadas, contudo, não se devem à diferença de doses. Iniciávamos as experiências utilizando 0,1 μg/g de animal e passando em seguida

a 0,2-0,5 µg/g quando as anteriores se mostravam inefetivas. Uma vez encontrada a dose mínima, a repetíamos duas vêzes. Mesmo nestas condições, uma dose que a princípio apresentava efeito positivo, logo depois provocava queda da pressão ou era inativa. Da mesma forma, doses inìcialmente ineficazes, passavam logo a hipertensivas ou hipotensivas.

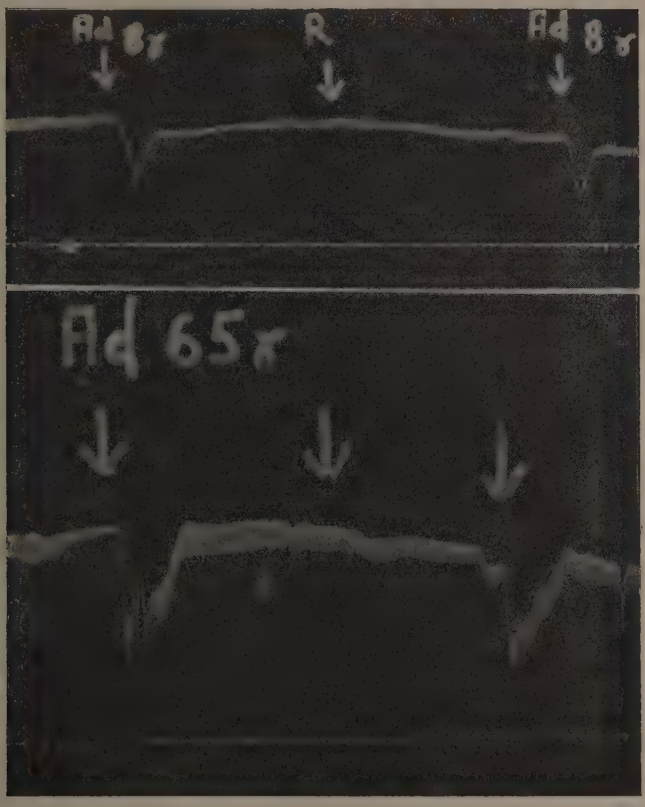


Fig. 2 — *Em cima*: Rã 5 ♀ 80 g — Entre duas doses de adrenalina 0,1 µg/g foi injetado o mesmo volume de Ringer, não havendo resposta. Tempo 10 seg. *Em baixo*: Rã 14 ♀ 65 g — Em cada seta foi injetado Adr 1 µg/g, observe-se a refratariedade à 2.ª dose. Tempo 10 seg.

A queda da pressão, quando presente, era abrupta, mantendo-se a diferencial e iniciando-se imediatamente a volta dos limites normais, atingidos em pouco tempo (70 segundos). Não havia hipertensão compensadora (fig. 2).

Nos casos de efeito hipertensor, o aumento era lento, gradual, subindo ao mesmo tempo a máxima e a mínima (fig. 3), retornando aos limites anteriores em cêrca de 5 minutos. O mesmo tipo de resposta, nos dois casos, se obtinha com a N. Qualquer que fôsse a resposta final, notava-se aumento da fôrça contrátil do miocárdio, com a A, mas não com a N.

Outro aspecto interessante a salientar é o da taquifilaxia. Assim, logo após a 1.ª dose de A, quer o resultado tenha sido de baixa ou elevação de pressão, a segunda injeção dentro de 2 até 5 minutos era inativa (fig. 2). O mesmo acontecia com a N, sendo nesta o tempo refratário bem maior, alcançando até 10 minutos. Esta reação apresentava ainda a peculiaridade de não ser específica para uma ou outra das drogas, pois a injeção de A provocava de pronto uma elevação do limiar, tanto para ela como para a N, e vice-versa. Esta taquifilaxia, em maior ou menor grau, foi observada em tôdas as experiências. No final de 5 experiências injetamos 0,1 μg/g de AcCh e o animal respondia normalmente 2 ou 3 vêzes à substância, sem qualquer sinal de hiper ou hipossensibilidade. Assim, podemos dizer que o fenômeno da elevação do limiar da sensibilidade às aminas quaternárias estudadas é restrito, e específico destas substâncias, não invadindo o terreno das substâncias colinérgicas, que apresentam atividade constante e determinada.

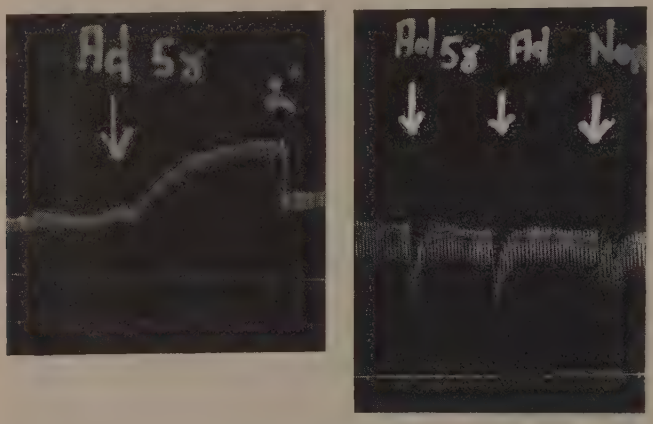


Fig. 3 — *À esquerda*: Rã 23 ♀ 50 g — Adrenalina 0,1 μg/g, observe-se que a hipertensão como resposta à adrenalina, quando ocorre, se instala lentamente mantendo-se por longo tempo. O cilindro permaneceu parado durante 2 min. na fase de recuperação. Tempo 10″ seg. *À direita*: Efeito da adr e da Nor depois da injeção de yoimbina. Êsse animal é o mesmo do traçado à esquerda no qual a adr tinha efeito hipertensor. Tempo 10 seg.

A Yoimbina, na dose de 0,1 μg/g não teve qualquer efeito, nem modificou a ação da A ou N injetadas subseqüentemente. Na dose de 0,2 μg/g provocou uma queda sensível (0,5 mm) e permanente da pressão arterial, tendo uma das vêzes a pressão caído a 2,5 mm. Após esta dose de Yoimbina, tanto a A como a N determinavam uma queda da pressão arterial, desaparecendo também a taquifilaxia (fig. 3).

A atropina, como já vimos, não tem por si ação na pressão arterial; é, como nos mamíferos, um bloqueador da acetilcolina. Nas rãs, após a injeção de 0,1 μg/g de atropina, a A determinava, em maior ou menor grau, uma ele-

vação significativa, porém transitória, da pressão arterial. Esta ação entretanto não se extendia à N.

A ergotamina, ao contrário da yoimbina, na dose de 0,2 μg/g não determinava qualquer variação de pressão, mas tôdas as doses subseqüentes de A eram francamente hipotensoras.

Iproniazida, até dose de 10 μg/g não teve qualquer ação sôbre a pressão arterial, nem alterou a subseqüente reação a A.

Em dois animais de 50 g tratados com 1 mg de iproniazida no saco linfático ventral duas horas antes da experiência, as injeções de A e N tiveram o mesmo efeito que em animal não tratado.

TABELA 2

Efeito da Adrenalina e Nor-adrenalina de 0,1 a 1 μg/g na pressão arterial da rã

	Número de animais	Experiências	Elevação	Queda	Sem efeito
Adrenalina	19	51	13	16	22
Nor-adrenalina	13	27	5	11	11
Yoimbina + adrenalina	6	6	0	6	0
Ergotamina + adrenalina	3	3	0	2	0

III) Hormônios da hipófise posterior

Dos hormônios da neurohipófise, estudamos apenas a ação da vasopressina bovina do Laboratório Parke-Davies, isenta de atividade ocitócica. No *Leptodactylus ocellatus*, confirmamos os resultados de Sawyer & Sawyer (1952) na *Rana*, que observaram uma ausência de atividade do hormônio vasopressor sôbre os efetuadores vasculares periféricos da rã. Mesmo utilizando doses 10 vêzes maiores que a empregada por aquêles autores, a resposta foi sempre negativa.

TABELA 3

Efeitos da vasopressina (I μg/g) na pressão arterial da rã

	Número de animais	Experiências	Elevação	Queda	Sen efeito
Pitressina	3	5	0	0	5

IV) Papel da resistência periférica

Conforme salientamos no capítulo de material e métodos, a dificuldade inicial, prendeu-se à contenção do animal. Tôda vêz que injetamos curare, ou fizemos a destruição da medula, de maneira a ficar o animal atônico, a pressão arterial apesar de mantida em nível, apenas ligeiramente mais baixo que o normal, não apresentava uma diferencial satisfatória. Ao mesmo tempo baixava o tonus do coração, sem a diferenciação característica entre o sangue venoso e o arterial, observado por transparência do ventrículo.

Com o correr da experiência observamos que no animal já preparado, sem medicamento, o curare em dose paralisante era capaz de diminuir a pressão arterial e fazer desaparecer as oscilações da pressão. Êste efeito parece devido a uma diminuição da resistência periférica, pois que esta era aumentada pela injeção de grande volume de Ringer (2 ml) subiam a pressão sistólica e a diferencial.

A queda da diferencial após a destruição da medula ou curarisação poderia ser assim explicada pela perda do tonus muscular. Que os dois procedimentos não interferem na farmacologia dos vasos, parece-nos claro, pela reação normal qualitativa do animal às injeções das drogas durante o estado de flacidez.

CONCLUSÕES

Da mesma forma que nos mamíferos, a acetilcolina tem um efeito hipotensor na rã sul-americana *Leptodactylus ocellatus*. Igualmente, as substâncias parassimpaticomiméticas como as parassimpaticolíticas facilitam ou inibem a ação da acetilcolina, interferindo sôbre a pressão arterial.

Os nossos resultados, ainda que contraditórios, estão de acôrdo com os dados clássicos de rãs européias e norte-americanas. Assim, Trendelenburg, um dos que mais trabalharam na fisiologia e farmacologia da adrenalina, em revisão sôbre o assunto, em 1919, confirma os resultados anteriores de Holzbach (1912), Burkett (1913) e Kuno (1914) que encontraram uma apreciável falta de sensibilidade do sistema regulador da pressão arterial da rã à substância adrenérgica. Conclui, então, que, apesar do grande número de trabalhos sôbre adrenalina e a atividade cardíaca e pressão arterial da rã, seu efeito não foi ainda completamente esclarecido. Também Hogben & Schlapp (1924) acharam um efeito hipertensor muito discreto e irregular em quatro rãs, utilizando técnica semelhante à nossa.

Uma dúvida que a princípio se poderia levantar contra êstes resultados, e também os nossos, seria a crítica sôbre o método empregado, pois a pressão do sangue não seria suficiente para contrabalançar o pêso da coluna de mercúrio, mascarando assim os possíveis efeitos de elevação de pressão.

Algumas experiências que realizamos, parece que põem de lado estas reservas. Se resfriarmos o coração a 20°C, pela aproximação de um tubo contendo gêlo, mas sem tocá-lo, há hipotensão com bradicardia, e mesmo nestas condições a adrenalina não tem efeito hipertensor, siquer para elevar a pressão ao seu nível anterior, ao contrário, mesmo neste estado de pressão sub-normal, esta droga ainda promove queda a nível mais baixo (fig. 4).

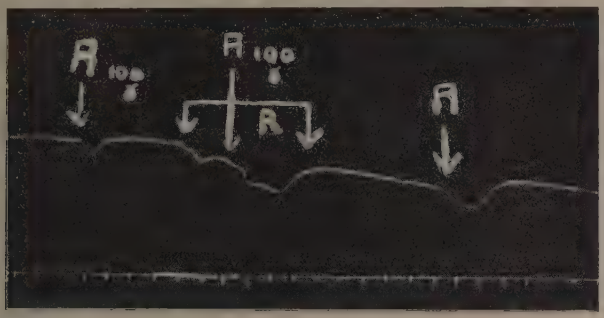


Fig. 4 — Rã 40 ♂ 50 g — Injeção de adrenalina 2 µg/g antes, durante e depois do resfriamento. O efeito hipotensor da adrenalina é constante, mesmo durante a fase de hipotermia, quando há uma ligeira queda de pressão (A=Adr, R=resfriamento). Tempo 10 seg.

Êstes resultados tornam-se insólitos, se atentarmos que todos os autores que utilizaram a técnica de perfusão do trem posterior da rã (TRENDELENBURG), observaram sempre um indiscutível efeito vasoconstrictor, o que não é exceção para o nosso animal. Temos então um grupo de animais onde o aumento da resistência periférica não se traduz por uma conseqüente elevação da pressão arterial. Uma hipótese a explicar tal contradição seria a aventada por CONKLIN (1930) de uma interrelação entre os sistemas vascular e linfático, passando a êste um excesso de líquido durante as fases de aumento da pressão na circulação sanguínea. Esta hipótese, entretanto, justificaria apenas uma das respostas observadas, a elevação lenta e mantida da pressão arterial após adrenalina; tanto as respostas negativas como as de hipotensão permanecem inexplicadas.

Não devemos entretanto nos esquecer do fato já descrito por SHANNON & WIGERS (1939) que utilizando manômetro ótico, observaram que o aumento da freqüência cardíaca na rã norte-americana e na tartaruga não se traduz por um aumento do débito. Como na nossa rã observamos taquicardia com aumento da fôrça contrátil do miocárdio após a injeção das substâncias adrenérgicas, não havendo aumento do débito, pode ocorrer por aumento do volume diastólico uma queda da pressão arterial. Aliás, o refluxo de sangue da cânula para o coração durante o efeito da adrenalina e da noradrenalina é visível.

SAWYER & SAWYER (1952), estudando a ação dos hormônios da hipófise posterior sôbre a pressão arterial da rã, e encontrando resultados que agora

confirmamos, concluem que os sistemas ativos de elevação, aqui encarados como efetuadores finais, da pressão arterial, ainda não se encontram filogenèticamente bem desenvolvidos no estágio da rã. Teríamos, então, a se admitir a hipótese, face os efeitos incontestes das substâncias colinérgicas sôbre a pressão arterial desta espécie, apenas um sistema interferindo na pressão arterial e com a agravante de agir sempre num determinado sentido, isto é, baixar. Sem incorrermos no risco teleológico, parece-nos indispensável pesquisar a existência de outros fatôres, adrenérgicos ou não, elevadores da pressão arterial, que, contrapondo-se aos colinérgicos, mantenham o equilíbrio do sistema.

SUMÁRIO

Foi medida a pressão arterial de *Leptodactylus ocellatus* com manômetro de mercúrio, tipo Dekanski, fazendo-se a tomada no arco aórtico pulmocutâneo esquerdo. A pressão normal variou de 46 a 35 mm a sistólica, com uma diferencial média de 1 a 3 mm.

As drogas testadas, foram injetadas na veia abdominal.

A acetilcolina baixa a pressão arterial, sendo o efeito potenciado pela prostigmina e bloqueado pela atropina.

O efeito da adrenalina e da nor-adrenalina é irregular; algumas vêzes elevação, outras baixa, e às vêzes, nenhum efeito, sugerindo que estas substâncias não têm papel importante na regulação da pressão arterial na rã. Mesmo quando esta é abaixada pelo resfriamento do coração (20°), a adrenalina não a eleva. É de notar a taquifilaxia observada com estas aminas quaternárias.

O bloqueio ganglionar com tetraetilamônio ou doses elevadas de nicotina levam a uma queda definitiva e pronunciada; mesmo nestas condições a adrenalina é inativa.

A vasopressina não parece contribuir para o sistema de regulação da pressão arterial no *Leptodactylus ocellatus*.

Como a adrenalina aumenta a resistência periférica e não eleva a pressão arterial, parece que êstes fatôres contrabalançam o efeito hipertensor observado.

A hipótese de Conklin de uma drenagem linfática pode explicar uma parte do mecanismo, ainda que insuficiente para justificar o efeito agudo das drogas.

Se há algum outro fator humoral hipertensor, adrenérgico ou não, na espécie estudada, permanece por ser demonstrado.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Blood pressure was recorded with a mercury manometer from the left aortic branch, in the South American *Leptodactylus ocellatus*. Normal systolic pressure ranged between 46 to 35 mm, with differential rate between 1 to 3 mm.

The drugs tested were injected into the abdominal vein.

Acetilcholine (0,1 μg/g) provoked a fall of blood pressure, prostigmin increases and atropin prevents or abolishes this effect.

The results with adrenalin (0,1 to 1 μg/g) and nor-adrenalin are very irregular, suggesting that theses substances do not play an important role on normal blood pressure regulation in the frog; even when the blood pressure is droged by heart cooling (20°C) adrenalin shows no action.

Ganglionic blockade with tetraethilamonium or nicotin causes a definite drop on blood pressure. Even in this condition adrenalin had no hypertensive action.

Vasopressin (1 unit/g) had no effects.

As adrenalin increases the vascular peripheric resistence and does not increases blood pressure, it seems that other factors counteracts the acute hypertensive effect. CONKLIN's hypothesis of a lymphatic drainage of blood may be a part of the mechanism, although insufficient to explain the acute effects of the drug.

If there is some other humoral hypertensor factor, adrenergic or not, in the species studied, remains to be demonstrated.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONKLIN, R. E., 1930, The formation and circulation of lymph in the frog. II, Blood volume and pressure, *Amer. J. Physiol.*, 95: 91-97.

DEKANSKI, J., 1952, The quantitative assay of vasopressin. *Brit. J. Pharmacol.*, 7: 567.

HOGBEN, L. T. & SCHLAPP, W., 1924, The vasomotor activity of pituitary extracts throughout the vertebrate series. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 14: 229-258.

SAWYER, W. H. & SAWYER, M. K., 1952, Adaptive responses to neurohypophyseal fractions in vertebrates. *Physiol. Zool.*, 25: 84-98.

SHANNON, E. W. & WIGGERS, C. J., 1939, The dynamics of the frog and turtle hearts — The non-refractory phase of systole. *Amer. J. Physiol.*, 128: 709-715.

TRENDELENBURG, W., 1919, *Die Hormone*. 1: 340 pp., Springer Verlag, Berlin.

WOOLLEY, P., 1959, The effect of posterior lobe pituitary extracts on blood pressure in several vertebrate classes. *J. Exp. Biol.*, 36: 453-458.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 61-64
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

NOVA CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS BRÊNTIDAS DO BRASIL (Col., Brentidae) [1]

CARLOS R. MEYER
Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas, Rio de Janeiro

(Com 6 figuras no texto)

Esta nossa contribuição se refere a descrição de duas novas espécies de Brêntidas do gênero *Vianodes* H. Rossi, 1955, de cuja revisão nos ocupamos presentemente.

Vianodes longirostris sp. n.

(Figs. 1 e 2)

Macho — Comprimento 21,5 mm. Protórax: comprimento 5,0 mm; largura 4,0 mm.

Cabeça mais larga que longa, mais estreita adiante que atrás, com orelhas medíocres. Meta-rostro com raso e largo sulco adiante dos olhos e fóvea entre os olhos. Meso-rostro com sulco linear fundo e com uma elevação de cada lado, apresentando dois círculos na sua parte mais larga. Pró-rostro longo, constricto adiante do meso-rostro, alargando-se para o ápice, levemente anguloso na face dorsal, com mandíbulas pequenas e cêrca do dôbro do comprimento do meta-rostro. Antenas longas, todos os artículos mais longos que largos. Cabeça com grossos pontos na face inferior, de ambos os lados, limitando forte depressão junto ao bordo posterior. Meta-rostro com 6 grossos pontos junto ao bordo anterior dos olhos, com pontos de ambos os lados na face inferior e com sulco transverso ínfero-lateral de cada lado, adiante dos olhos. Protórax mais longo que largo, estreitado adiante e atrás, dorsalmente com forte sulco longitudinal, bem visível, com funda depressão transversal junto ao bordo pos-

[1] Recebido para publicação a 15 de dezembro de 1960.
Trabalho elaborado na Seção de Entomologia Agrícola do Instituto de Ecologia e Experimentação Agrícolas, sob os auspícios do Instituto de Economia Rural (Chefe da Seção: Benedicto A. M. Soares).

terior. Metasterno com funda fóvea. Abdômen liso inferiormente. 5.º segmento abdominal com minúsculos pontos distribuídos uniformemente. Élitros anteriormente oblíquos, posteriormente truncados e com curto espinho no ângulo apical externo, a primeira estria com fundo sulco, as demais com filas longitudinais de fundos pontos, interstícios bem distintos, com a seguinte distribuição de faixas de contraste: 3.º com longa basal que vai até quase o meio, ponto pós-mediano; e curta apical; 4.º com curta mediana e ponto pós-mediano; 5.º com ponto ante-mediano e ponto pós-mediano; 6.º com ponto ante-mediano; 7.º com ponto ante-mediano e curta faixa mediana; 8.º com longa pós-umeral. Patas normais, as tíbias do primeiro par com leve elevação mediana interna.

Colorido fundamental castanho-avermelhado, fosco, face ventral, patas em parte, pró-rostro e antenas pouco brilhantes. Protórax com anel negro completo no bordo anterior.

Procedência — Brasil, Amazonas, Manaus.

Holótipo macho, coligido por C. Elias, em abril de 1958, depositado na coleção Campos Seabra.

A espécie é mais afim de *V. facetùs* de que se diferencia, entre outros, pelos seguintes caracteres: não possui carena no pró-rostro; os pontos dos élitros são muito mais fundos; a faixa ornamental do 3.º interstício é longa, indo além do início da faixa mediana do 4.º interstício; o pronoto possui raso e largo sulco dorsal.

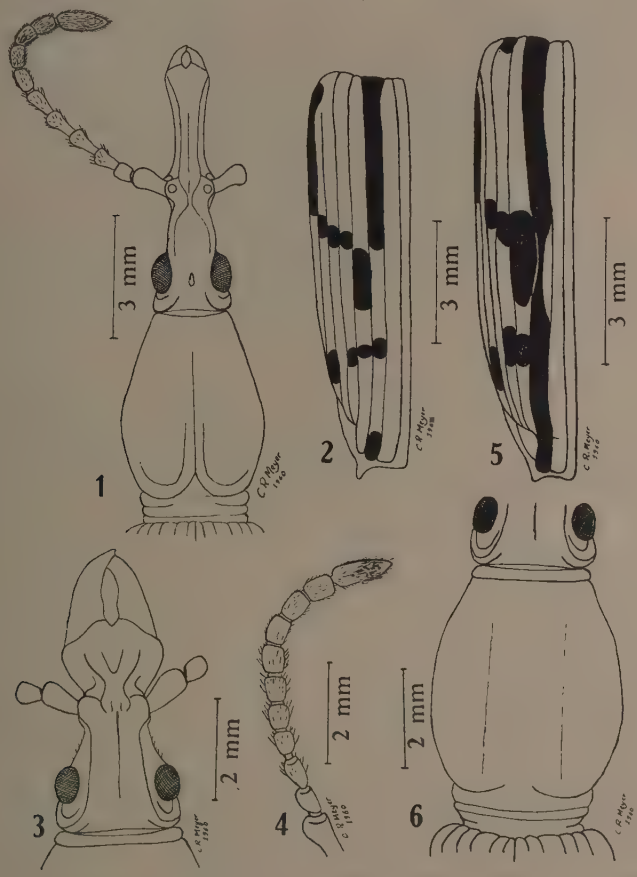
Vianodes Liae sp. n.

(Figs. 3-6)

Macho — Comprimento 20,5 mm. Protórax: comprimento 5,5 mm; largura 4,0 mm.

Cabeça mais larga que longa, mais estreita adiante que atrás, orelhas medíocres, lados do meta-rostro convergentes para o meso-rostro, espaço inter-ocular sem sulco, pró-rostro constricto adiante do meso-rostro, com mandíbulas porrectas providas de dentículo interno sub-basal. Meso-rostro com elevação de cada lado e acentuado sulco entre elas. Antenas com os artículos 4 a 6 curtos quase tão longos quão largos, os demais artículos mais longos que largos. Cabeça e rostro sem pontos. Pró-rostro com forte e curto tubérculo na face inferior. Protórax mais longo que largo, estreitado para diante e para trás, muito pouco deprimido longitudinalmente. Metasterno com raso sulco longitudinal, que termina posteriormente em funda fóvea. Abdômen sulcado longitudinalmente no meio. Segmentos abdominais quase lisos. Élitros levemente oblíquos anteriormente, posteriormente truncados, com os ângulos apicais pouco salientes, a primeira estria com fundo sulco, as demais com filas longitudinais de pontos, interstícios bem distintos, com a seguinte distribuição de faixas de con-

traste: 3.º com faixa em todo o comprimento, menos nítida apenas atrás do meio; 4.º com faixa mediana e pós-mediana; 5.º com ponto basal, curta ante-mediana e pós-mediana; 6.º com curta ante-mediana; 7.º com faixa pós-mediana; 8.º com longa basal; 9.º com faixa apical. Patas normais, as tíbias do primeiro par com espinho mediano interno.



Vianodes longirostris sp. n., macho — Fig. 1: Protórax, rostro e antenas; fig. 2: élitro. *Vianodes Liae* sp. n., macho — Fig. 3: Cabeça e rostro; fig. 4: antena; fig. 5: élitro; fig. 6: protórax.

Colorido fundamental castanho-avermelhado, um tanto fosco, face ventral, patas em parte, rostro e antenas um pouco brilhantes. Protórax com duas negras faixas longitudinais dorso laterais e com anel negro completo no bordo anterior. Antenas irregularmente enegrecidas.

Procedência — Brasil, Amazonas, Benjamin Constant.

Holótipo macho, coligido por I. C. Lima, em agôsto de 1955, depositado na coleção Campos Seabra.

A espécie é mais afim de *V. depressus* Meyer, 1960, de que se diferencia fàcilmente pelos seguintes caracteres: os ângulos apicais externos dos élitros são pouco salientes (prolongados em curto espinho em *V. depressus*), os artículos antenais 4.º a 6.º são curtos, quase tão largos quão longos (em *depressus* êsses artículos são longos, muito mais longos que largos); o rostro se estreita progressivamente da cabeça para o meso-rostro, sendo o espaço inter-ocular sem sulco (em *depressus* o rostro não se estreita progressivamente para o meso-rostro, sendo os lados do meso-rostro e meta-rostro paralelos e não convergentes no meso-rostro); não há sulco longitudinal dorsal acentuado no protórax e não há depressões longitudinais laterais acentuadas do protórax, características de *depressus*.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit werden vom Verfasser zwei neue Arten von Coleopteren von der Familie der Brentiden beschrieben (*Vianodes longirostris* sp. n. und *Vianodes Liae* sp. n.).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Blackwelder, R. E., 1947, Checklist of the Coleopterous Insects of Mexico, Central America, The West Indies, and South America, Part 5, *U. S. Nat. Mus. Bull.*, 185: 771-777.

Germar, E. F., 1824, *Insectorum Species novae aut minus cognitae, descriptionibus illustratae*, 1 (Coleoptera): XXIV + 624 pp..

Haedo Rossi, J. A., 1955, Notas Brentidologicas I (Coleopt.). *Neotropica*, 1 (4): 61-64.

Kleine, R., 1921, Brenthidenstudien. *Ent. Blätter*, 17 (7/9): 124-131, 6 figs.

Kleine, R., 1923, Bestimungstabelle der Gattung *Arrhenodes* Schoenherr. *Arch. Naturgesch.*, 89 A 4: 169-180, 16 figs.

Kleine, R., 1927, Novos gêneros e espécies da fam. *Brenthidae* (*Coleopt.*) da Zona Neotrópica. *Rev. Mus. Paulista*, 15: 421-542, 3 ests.

Kleine, R., 1927, *Coleopterorum Catalogus*, auspiciis et auxilio W. Junk, editus a S. Schenkling, 89: 1-94.

Kleine, R., 1938, *Coleoptera. Fam. Genera Insectorum*, 207: 197 pp., 6 ests., 6 figs.

Kleine, R., 1938, Neue Brenthiden aus dem Deutschen Entomologisches Institut (Coleoptera), *Arb. morph. taxon. Ent.*, 5 (3): 289-291, 4 figs.

Kleine, R., 1939, Bestimungstabelle der Brenthidae, *Ent. NachrBl*, 12 (2): 65-80; (3/4): 129-144 (XII-1938).

Kleine, R., 1944, Neue Brenthiden des Pariser Museums (Coleoptera). *Rev. Franc. Ent.*, 10 (4): 149-158, figs.

Meyer, C. R., 1959, Contribuição ao estudo dos Brêntidas do Brasil (*Col. Brentidae*), *Rev. Brasil. Biol.*, 19 (2): 125-131, 11 figs.

Meyer, C. R., 1960, Contribuição ao estudo do gênero *Vianodes* H. Rossi, 1955 (Col. Brentidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 20 (2):143-147, 7 figs.

Schoenherr, C. J., 1833, *Genera et Species Curculionidum*. 1: 681 pp., Corrigenda, 3 pp..

Senna, A., 1897, Descriptions de quelques espèces nouvelles de Brenthides du Musée royalle et de ma collection, *Ann. Soc. Ent. Belg.*, 41: 227-236.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) 65-78
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

ESTUDO DAS AÇÕES AUTONÔMICAS E NEUROMUSCULARES DA ISOCONDRODENDRINA E SEUS DERIVADOS POR ALQUILAÇÃO [1]

ARMANDO OCTÁVIO RAMOS
Faculdade de Medicina, São Paulo

(Com 7 figuras no texto)

Conquanto conhecida há muito tempo, os trabalhos sôbre a isocondrodendrina ainda são em pequeno número e esparsos, além disso, seu uso clínico, de certo modo precedeu o conhecimento de sua farmacologia. Para se ter uma idéia dêsse fato, apresentamos as citações de que temos conhecimento, em ordem cronológica. GABBE (1914), citado por HAUSCHILD, 1934 e SEBA, 1949, atribuiu à droga uma propriedade depressora do sistema nervoso central. SEBA (1949) referiu-se à sua ação benéfica na dismenorréia. LAURIAT (1951) fêz um estudo clínico experimental, afirmando não exercer a isocondrodendrina ações curarizante ou analgésica e que a droga não influencia a contração do útero isolado em presença de pituitrina ou ergotamina, obtendo, outrossim, ação benéfica em sindromes viscerais dolorosas. GLEY *et al.* (1952) aventam a hipótese de o limiar dos filetes sensitivos do simpático ser aumentado pela ação da isocondrodendrina. DUMERY (1952) utilizou-a com sucesso em síndromes dolorosas digestivas e pélvicas. SPERANDIO & RAMOS (1958) verificaram a ação protetora da isocondrodendrina na formação de úlceras gástricas produzidas pela ligadura do piloro, em ratos, observando também diminuição da secreção gástrica nesses animais.

Quanto aos derivados da isocondrodendrina, apenas encontramos o trabalho de MARSCH & PELLETIER (1948) sôbre o iodeto da d-o-metil-N-metilisocondrodendrina. Administrando essa droga na fase de descurarização da d-tubocurarina, em gatos, êste autor observou recrudescência do bloqueio neuromuscular.

---

[1] Recebido para publicação a 29 de novembro de 1960.
Parte do material usado no presente trabalho foi utilizado na tese de doutoramento do autor.
Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. (Prof. Charles E. Corbett).

Nosso propósito de estudar a isocondrodendrina e alguns de seus derivados decorre do que foi exposto e do interêsse em melhor conhecer a sua farmacologia, à luz do que já foi estabelecido para a d-tubocurarina e derivados da bebeerina, que com ela apresentam íntima correlação, tanto do ponto de vista estrutural quanto do de origem botânica.

MATERIAL E MÉTODOS

1) *Drogas usadas* — a) Sulfato de isocondrodendrina (I), sintetizado no "Instituto Vital Brazil", por SEBA, R.A.

b) Cloreto do dimetiléter da dimetilisocondrodendrina (MI), sintetizado no "Instituto Vital Brazil", por SEBA, R. A.

c) Cloreto do dietiléter da dietilisocondrodendrina (EI), sintetizado no "Instituto Vital Brazil", por SEBA, R. A.

d) Iodeto do diamiléter da diamilisocondrodendrina (AI), sintetizado por ACQUARONE, E. (1954).

e) Cloralose — Hoffman La Roche.

f) Pentobarbital sódico ("Nembutal" — Abbot).

g) Éter etílico ("Éter anestésico" — Rhodia).

h) Neostigmina ("Prostigmine" — Roche).

i) Acetilcolina ("Acetylcholine" — Roche).

j) Cloridrato de adrenalina — Parke Davis.

k) Sulfato de atropina — Wallis Maine.

l) Cloridrato de pilocarpina — Pantofarma.

m) Brometo de hexametônio ("Vegolizen" — Rhodia).

n) Nicotina — gentileza do Dr. Estevão Nador.

o) Cloreto de bário — Baker.

p) Cloridrato de papaverina — Enila.

Os pontos de fusão das drogas usadas neste trabalho, determinados microscòpicamente com aparelho da Fisher Scientific Co., foram I — 291°C; MI — 242°C; EI — 216°C e AI — 194°C.

2) *Excitação do côto periférico do nervo vago* — Em 16 cães e 9 gatos, anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/kg) pela via venosa em cães e peritonial em gatos, ou pela cloralose (80 mg/kg i.v.), verificamos os efeitos da estimulação do côto peritérico do nervo vago isolado no pescoço, sôbre a pressão arterial e a freqüência cardíaca. Os estímulos foram pulsos monofásicos de 2 mseg, fornecidos por estimulador electrônico Grass, modêlo S4, com a freqüência de 10 por segundo e voltagem de 10 a 30 volts, aplicados durante 10 segundos.

A pressão arterial foi registrada por meio de manômetro de Ludwig, ligado à artéria femural, através de uma cânula de François-Frank, usando-se

como anticoagulante o citrato de sódio a 8%. Antes da injeção de cada droga em estudo, realizamos excitações vagais e injeções de acetilcolina (10 ou 20 gamas). Após a injeção daquela droga esperamos a recuperação da pressão arterial e repetimos as excitações vagais e as injeções de acetilcolina. As drogas foram administradas pela veia femural, que fôra prèviamente canulada. O nervo excitado foi sempre o do lado direito.

3) *Excitação da corda do tímpano e fluxo salivar da glândula submaxilar* — Usamos 14 cães anestesiados com pentobarbital sódico (30 mg/kg i.v.), preparados de acôrdo com a técnica preconizada por Corbett (1952) e nos quais registramos simultâneamente a pressão na artéria femural. Os estímulos foram, também, pulsos monofásicos de 2 mseg aplicados durante 30 segundos, com voltagem de 10 a 30 volts e ciclagem de 10 por segundo, sendo repetidos cada 3 minutos. No final de cada experiência provamos a preparação com a administração de pilocarpina (0,15 a 0,5 mg/kg i.v.) para verificar a reatividade do efetuador.

4) *Estimulação do simpático cervical e contração da membrana nictitante* — Nestas experiências utilizamos gatos anestesiados pelo pentobarbital sódico (30 mg/kg i.p.) ou pela cloralose (80 mg/kg i.v.), cujas cabeças foram fixadas por um prendedor apropriado, sendo a membrana nictitante ligada a uma alavanca adequada para o registro de suas contrações. Os estímulos, com as características dos anteriormente citados foram aplicados através de electrodos impolarizáveis, sempre máximos e com freqüência de 10 ciclos por segundo. Preferimos estímulos com esta freqüência, pois com ela nunca obtivemos relaxamento parcial da membrana nictitante, fato êsse assinalado por Orias (1932).

As drogas foram administradas pelas vias venosa e arterial.

Nas experiências em que as drogas foram injetadas pela via venosa, usamos 23 gatos. Em 16, isolamos o simpático cervical pré e pós-ganglionar, de acôrdo com a técnica de Acheson & Pereira (1946).

Em 7 animais, primeiramente esmagamos o gânglio cervical superior e administramos brometo de hexametônio (2,5 mg/kg i.v.), para procedermos depois à excitação pós-glangionar simpática, durante a qual administramos os compostos em estudo.

A via arterial foi usada em 14 gatos preparados segundo a técnica de semiperfusão de Brucke, Macho & Werner (1948), modificação da de Kibjakow (1933).

5) *Ação na junção mioneural* — Esta ação foi estudada por meio do registro das contrações do músculo tibial anterior em 14 gatos e 12 cães, anestesiados ou pelo pentobarbital sódico (30 mg/kg) endovenosamente em cães e por via peritonial em gatos, ou pela cloralose (80 mg/kg e 100 mg/kg respectivamente, i.v.).

O nervo ciático popliteo externo foi isolado na altura da face externa do joelho e seu côto periférico colocado sôbre eelctrodos impolarizáveis. O

tendão do músculo tibial anterior foi seccionado na altura da articulação do tornozelo e ligado à uma alavanca semi-isométrica, para registro de suas contrações. A pata do animal foi fixada por meio de um parafuso colocado no têrço superior da tibia. Quando houve paralisia da respiração, praticamos a respiração artificial.

As drogas foram administradas pela veia femural prèviamente canulada. Electrodos foram ligados diretamente sôbre o músculo tibial anterior para que se pudesse pesquisar sua excitabilidade direta. As excitações, supramáximas e de freqüência variável, foram fornecidas por estimulador electrônico Grass; para contrações isoladas usávamos a freqüência de 1 estímulo para 2 segundos e, para a obtenção de tétano, a de 70 por segundo. Injeções de neostigmina (0,5 a 1 mg) foram feitas após o uso das drogas em estudo.

6) *Ação na musculatura lisa* — Em 14 cães anestesiados pelo pentobarbital sódico ou pela cloralose, da maneira já indicada, isolamos entre duas ligaduras um segmento intestinal, com aproximadamente 20 cm. Tal segmento, cheio de óleo inabsorvível, foi posto em conexão com um tambor de Marey através de um manômetro de água. A veia femural foi canulada para facilitar a administração das drogas. Nessas preparações estudamos a ação do I e seus derivados sôbre as contrações e o tono espontâneo do intestino, bem como o seu efeito nas contrações produzidas pelo ionte bário (50 a 2 mg $BaCl_2$) e pela pilocarpina (3 a 7 mg do cloridrato). A influência dessas drogas sôbre a contração produzida por doses excitantes ganglionares de nicotina (0,25 mg/kg) foi comparada com a ação do hexametônio; para tanto empregamos animais diferentes que constituíram um lote à parte.

RESULTADOS

1) *Excitação do côto periférico do nervo vago* — A inibição vagal foi produzida com doses menores do que as necessárias para promover relaxamento da membrana nictitante à excitação pré-ganglionar simpática, e do que as que determinam prolongada queda da pressão sanguínea. As doses usadas para a obtenção do efeito em aprêço produziram apenas uma hipotensão passageira e foram as seguintes:

I — 10 mg/kg; MI — 0,5 mg/kg; EI — 0,5 mg/kg; AI — 0,5 a 0,75 mg/kg; não verificamos diferenças entre cães e gatos.

A isocondrodendrina e seus derivados impediram a manifestação de bradicardia e hipotensão pela excitação do côto periférico do nervo vago, mas não influenciaram a ação hipotensora e bradicárdica da acetilcolina.

2) *Excitação da corda do tímpano e fluxo salivar da glândula submaxilar* — Como se pode observar na fig. 1, a excitação da corda do tímpano provocou aparecimento de fluxo salivar em animais que ainda não haviam recebido drogas. A administração do I e seus derivados bloqueou total ou

parcialmente a salivação resultante da excitação da corda do tímpano. A pilocarpina (0,15 a 0,5 mg/kg) causou o aparecimento do fluxo salivar, mesmo na vigência da ação do I e seus derivados. Com o AI notamos, logo após a injeção, o aparecimento de um pequeno fluxo salivar espontâneo (4 a 8 gôtas) mas, com uma segunda dose desta mesma droga, êste fluxo não mais ocorreu. Com o I o bloqueio nunca foi total, nem com doses de 30 mg/kg.

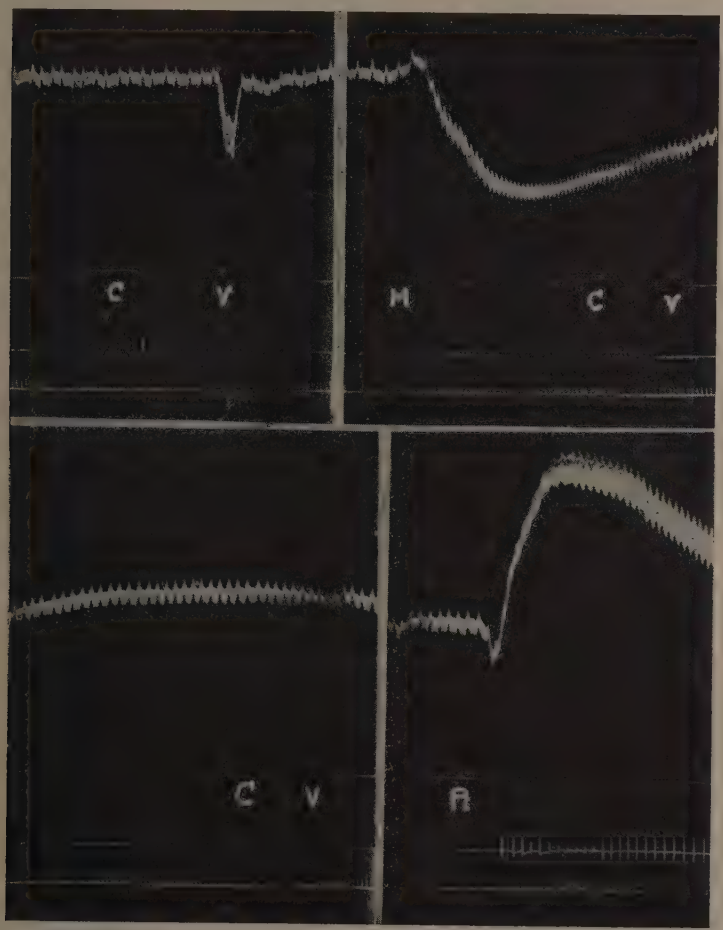


Fig. 1 — Cão 14 kg, anestesiado pelo pentobarbital sódico (30 mg/kg, i.v.). De cima para baixo: 1) registro da pressão arterial, 2) linha que indica a pressão 0 cm de Hg, as injeções e os estímulos elétricos, 3) marcação das gôtas de saliva, 4) linha de tempo (6 seg). C = estímulo elétrico da corda do tímpano (30 v — 30 c/s — 30 seg); V = estímulo elétrico do nervo vago (30 v. — 10 r. — 30 seg); M = injeção venosa de MI — 0,5 mg/kg; Pi = cloridrato de pilocarpina — 0,2 mg/kg, i.v.). Entre os quadros houve um intervalo de tempo de 2 minutos.

Observar: a) hipopiese causada pelo MI; b) inibição da salivação produzida pelo estímulo da corrente do tímpano; c) inibição do efeito vagal na pressão arterial; d) inversão do efeito pressor da pilocarpina e salivação provocada por essa droga.

As doses necessárias para obter bloqueio acentuado ou total da salivação foram semelhantes às empregadas para abolir os efeitos da excitação vagal na pressão arterial.

I — 10 mg/kg; MI — 0,5 mg/kg; AI — 0,75 mg/kg.

Paralelamente observamos uma inversão do efeito pressor da pilocarpina quando esta foi administrada após a isocondrodendrina e seus derivados.

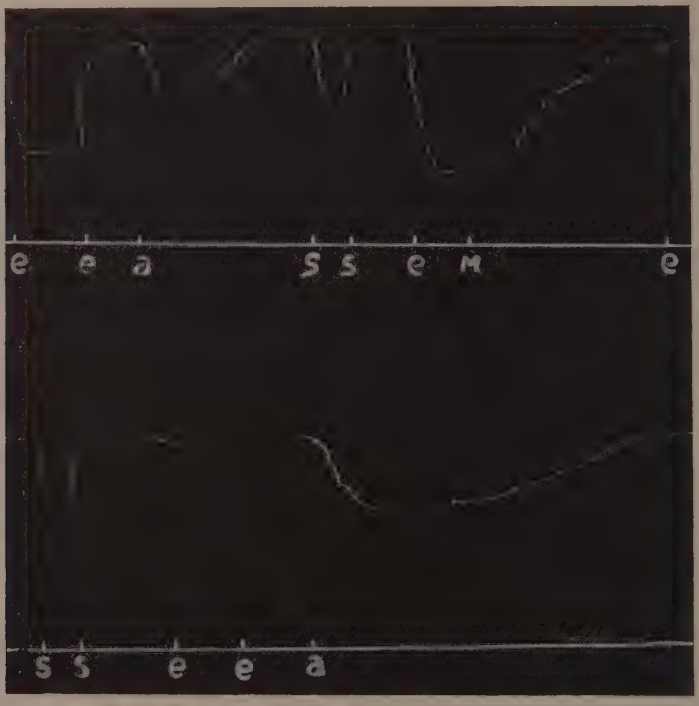


Fig. 2 — Gato 3 kg, anestesiado pela cloralose (80 mg/kg, i.v.). Registro das contrações da membrana nictitante e linha de tempo (10 seg.). (e = marcação do início e fim do estímulo pré-ganglionar simpático; s = marcação do início e fim do estímulo pós-ganglionar simpático; a = injeção venosa de 50 g de cloreto de adrenalina; m = injeção venosa de MI — 3 mg/kg).

Observar que a ação bloqueadora do MI se fêz sôbre o estímulo pré-ganglionar, não influindo os efeitos da excitação pós-ganglionar e da adrenalina.

3) *Estimulação do simpático cervical e contração da membrana nictitante* — A administração venosa do I e seus derivados causou relaxamento da membrana nictitante, contraída por estimulação pré-ganglionar do simpático cervical. O estímulo das fibras pós-ganglionares do simpático cervical, bem como a injeção de adrenalina, produziram contrações da membrana nictitante, mesmo na vigência da ação dessas drogas (fig. 2).

A membrana nictitante contraída por estímulo pós-ganglionar, em animal cujo gânglio cervical superior fôra esmagado e que recebera dose prévia

de brometo de hexametônio, pràticamente não se relaxou pela administração do I e seus derivados.

O efeito pressor e a contração da membrana nictitante produzidos pela adrenalina, após a administração das drogas em estudo, mostraram-se aumentados em relação aos efeitos obtidos antes de sua administração (fig. 2).

O I, em dose de 10 mg/kg, pràticamente não relaxou a membrana nictitante, mas causou a descontração total desta, nas doses de 25 a 30 mg/kg. Com os derivados do I, também observamos uma relação entre dose e efeito. Assim, doses de 0,5 mg/kg de MI, AI ou EI não tiveram ação sôbre a contração da membrana nictitante; doses de 1 a 2 mg/kg de MI e EI e de 2 a 4 mg/kg de AI relaxaram a membrana nictitante em 20 a 80% de sua contração inicial. A administração de 3 a 4 mg/kg de MI ou EI fêz relaxar total ou quase totalmente a membrana nictitante. O AI, em nenhuma dose provocou sua descontração total.

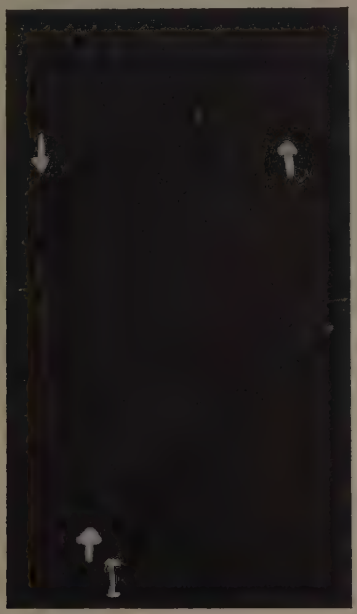


Fig. 3 — Gato 3,1 kg, anestesiado pela cloralose (80 mg/kg i.v.). Via arterial: artéria carótida externa canulada contra a corrente. Registro das contrações da membrana nictitante. Linha de tempo (10 seg). As setas superiores indicam o início e o fim do estímulo simpático pré-ganglionar. (I = injeção arterial de I — 0,5 mg).
Observar que a membrana nictitante se descontraiu em cêrca de 50%.

A administração dos compostos em estudo por via arterial causou redução na amplitude de contração da membrana nictitante devida à excitação pré-ganglionar (figs. 3 e 4). O I na dose única de 0,3 mg, causou redução inferior a 50% da contração da membrana nictitante; redução de aproximadamente

50% foi obtida com a dose de 0,5 mg. O MI e o EI causaram uma diminuição da contração à metade com doses de 0,15 e 0,2 mg respectivamente. Descontrações completas da membrana nictitante foram obtidas com doses de 0,4 a 0,5 mg de MI ou EI.

As experiências com o AI por via arterial foram até certo ponto prejudicadas pelo fato de o solvente empregado também causar um pequeno relaxamento da membrana nictitante. Não obstante, houve uma diferença nítida na intensidade dos efeitos, suficiente para permitir a afirmação de que doses de 0,5 a 0,75 mg dessa substância provocaram 30 a 50% de descontração da membrana (fig. 4).

A repetição de doses dessas drogas num mesmo animal, eventualmente produziu taquifilaxia.

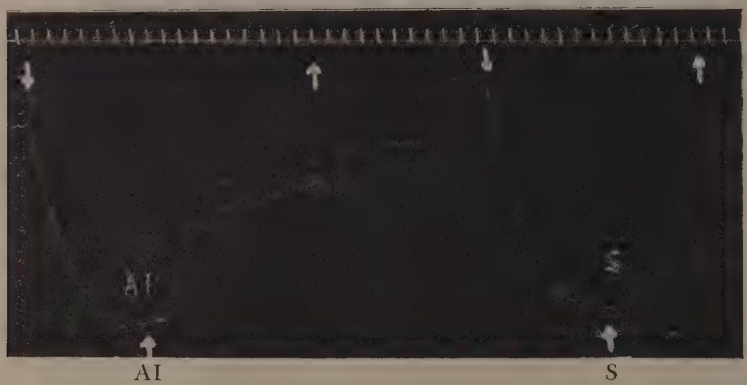


Fig. 4 — Gato 3,5 kg, anestesiado pela cloralose (80 mg/kg i.v.). Via arterial: artéria carótida externa canulada contra a corrente. Registro das contrações da membrana nictitante. Linha de tempo (10 seg). As setas superiores indicam o início e fim do estímulo pré-ganglionar simpático. (AI = injeção arterial de AI — 0,5 mg em 0,2 cm^3; s = injeção arterial de 0,2 cm^3 de álcool-água (solvente do AI).

Comparar os relaxamentos obtidos.

4) *Ação na junção mioneural* — Dos compostos estudados neste trabalho, sòmente o MI e o EI tiveram ação nítida sôbre a junção mioneural. O AI e o I não influenciaram a excitabilidade indireta do músculo tibial anterior.

O MI e o EI foram capazes de abolir a excitabilidade indireta do músculo tibial anterior (figs. 5 e 6), conservando porém sua excitabilidade direta. As doses necessárias para produzir o bloqueio neuromuscular foram semelhantes no cão e no gato. A potência dos dois compostos foi pràticamente a mesma. Doses de 3,5 a 4 mg/kg produziram um bloqueio neuromuscular total dificilmente antagonizável pela neostigmina. A administração de 2,5 a 3,5 mg/kg de MI ou de EI produziu, contudo, um bloqueio neuromuscular completo, mas fàcilmente anulado por aquela anticolinesterase (figs. 5 e 6). Doses de 1 a 2 mg/kg de MI e de 1 a 2 mg/kg de EI produziram reduções de 40 a 70% na amplitude das

contrações do músculo tibial anterior, induzidas pela excitação do nervo ciático popliteo externo.

Na vigência do bloqueio neuromuscular pelo MI ou pelo EI, a aplicação de estímulos tetanizantes causou o aparecimento do fenômeno de facilitação pós-tetânica (fig. 5).

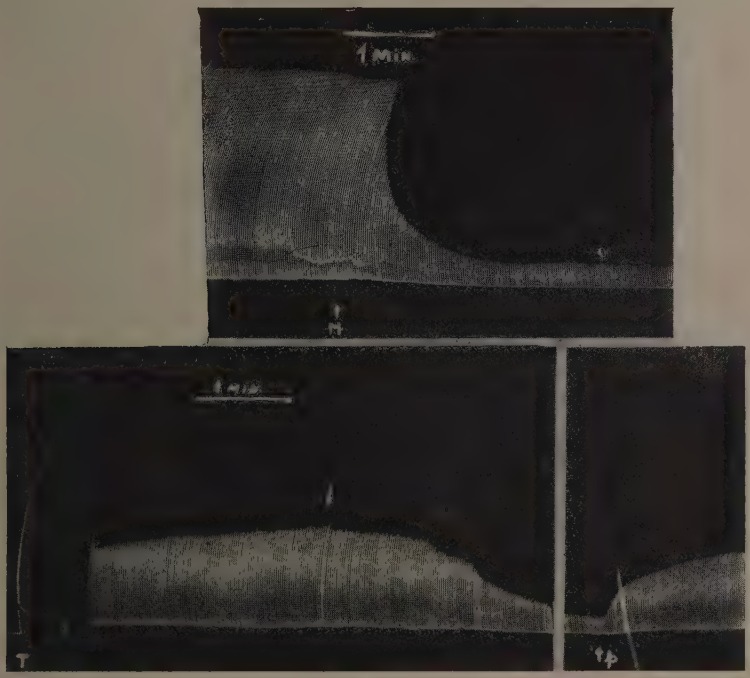


Fig. 5 — Cão 10 kg, anestesiado pelo pentobarbital sódico (30 mg/kg i.v.). Registro das contrações do músculo tibial anterior provocadas pelo estímulo do nervo poplítico externo (0,5 c/s). (M = injeção venosa de MI — 3 mg/kg; T = estímulo tetanizante (70 c/s); seta superior indica parada de 2 minutos; p = injeção venosa de neostigmina — 0,5 mg).

Observar: a) a curarização produzida pelo MI; b) a não manutenção da contração tetânica pelo músculo tibial anterior; c) a descurarização pós-tetânica; d) o antagonismo exercido pela neostigmina.

Por influência do MI ou do EI nas doses de 0,5 a 0,75 mg/kg, o músculo tibial anterior não foi capaz de se manter em contração durante a aplicação de estímulos tetanizantes (fig. 5).

5) *Ação na musculatura lisa* — A isocondrodendrina e seus derivados exercem ação inibidora no intestino "in situ" do cão, causando diminuição do tono e do peristaltismo. Esta ação, contudo, não foi capaz de antagonizar o efeito estimulador da pilocarpina e do ion bário, como o fizeram a atropina (1 mg/kg) e a papaverina (50 mg) pela via venosa.

Por outro lado, as drogas em estudo impediram a ação estimulante da nicotina no intestino (fig. 7).

É interessante salientar que em 5 experiências tivemos a oportunidade de observar alguma contração inicial causada pelo I e seus derivados, para então se manifestar a referida inibição intestinal.

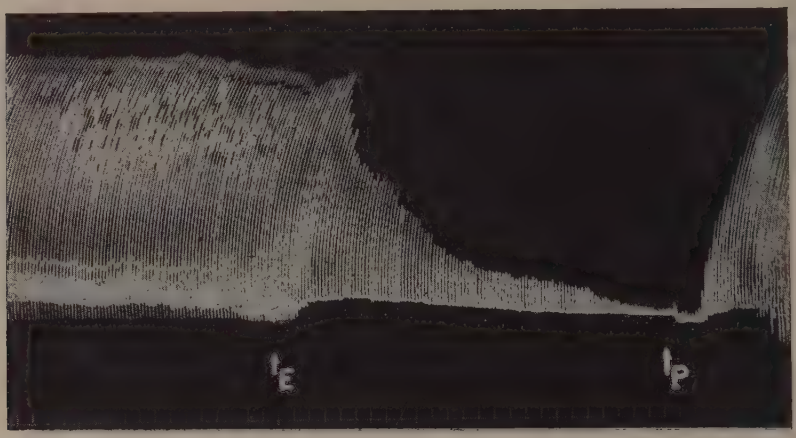


Fig. 6 — Gato 1,5 kg, anestesiado pela cloralose (80 mg/kg i.v.). Registro das contrações do músculo tibial anterior provocadas pelo estímulo do nervo ciático poplíteo externo (0,5 c/s). Linha de tempo (19 seg.) (E = injeção venosa de EI — 2,5 mg/kg; P = injeção venosa de neostigmina — 1 mg).
Observar: a) a curarização provocada pelo EI; b) o efeito antagônico da neostigmina.

As doses capazes de causar relaxamento intestinal, ou de inibir a ação da nicotina, foram semelhantes àquelas necessárias para produzir o bloqueio da excitação do nervo vago ou da corda do tímpano (I = 10 a 20 mg/kg; MI = 0,5 a 0,75 mg/kg; E_I = 0,5 a 0,75 mg/kg; AI = 0,75 a 1 mg/kg).

À propósito, cumpre assinalar que, para demonstrar que estas drogas não exercem ação musculotrópica nem atropínica empregamos doses altas na tentativa de antagonizar os efeitos da pilocarpina ou do ion bário (I = 35 mg/kg; MI = 4 mg/kg; EI = 4 mg/kg: AI = 2 mg/kg).

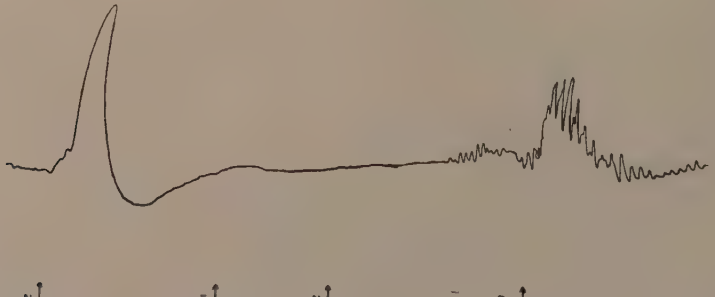


Fig. 7 — Cão 10 kg, anestesiado pela cloralose (100 mg/kg i.v.). Registro das contrações do intestino "in sito" do cão. (N = injeção venosa de nicotina — 0,25 mg/kg; I = injeção venosa de I — 20 mg/kg; Ba = injeção venosa de cloreto de bário — 50 mg).
Observar a inibição do efeito da nicotina pela isocondrodendrina.

DISCUSSÃO

Dos resultados obtidos podemos deduzir, não só a atividade ganglioplégica de variável intensidade exercida pela isocondrodendrina e seus derivados, como também excluir a possibilidade de êsses compostos possuírem atividades bloqueadoras adrenérgicas ou colinérgicas, pois, observamos respostas à adrenalina, à acetilcolina e à pilocarpina após a sua administração. Aliás, a ação da adrenalina sôbre a membrana nictitante e a pressão arterial foram mais acentuadas após a administração da isocondrodendrina e seus derivados, fato êsse que também é observado com o uso de outros ganglioplégicos. Podemos, outrossim, afirmar que a isocondrodendrina e seus análogos, não possuem ações antiespasmódicas, pois não foram capazes de influenciar as respostas do intestino do cão ao ion bário e à pilocarpina, resultados êsses que confirmam os de Lauriat (1951).

Tal como acontece com a d-tubocurarina, a isocondrodendrina e os seus derivados alquilados possuem maior afinidade em relação aos gânglios parassimpáticos, pois foram suficientes doses pequenas para se obter bloqueio dos efeitos vagais na pressão arterial e da salivação obtida por excitação da corda do tímpano; doses 3 a 7 vêzes maiores, foram necessárias para se obter o bloqueio do gânglio cervical superior.

Uma interpretação clara dos resultados obtidos com o uso clínico da isocondrodendrina por vários autores (Seba, 1949; Lauriat, 1951 e Dumery, 1952) pode ser feita, tomando-se como base os nossos dados experimentais. A remissão de cólicas, espasmos e dôres viscerais obtidas por aquêles autores, deve ser explicada pela ação ganglioplégica da isocondrodendrina. O bloqueio ganglionar, causando relaxamento da musculatura lisa, levaria à diminuição da dôr pela redução do espasmo visceral. Da mesma maneira os resultados de Sperandio & Ramos (1958), que verificaram em ratos com o piloro ligado a ação protetora da isocondrodendrina na formação de úlceras gástricas, também podem ser interpretados como devidos à ação ganglioplégica daquela droga.

É interessante assinalar que, em nossas experiências, tanto o brometo de hexametônio como a isocondrodendrina e seus derivados se comportaram de maneira análoga, impedindo a contração do intestino pela nicotina. O fato de a isocondrodendrina e seus derivados impediram o efeito estimulante da nicotina no intestino do cão deve ser atribuído a sua ação ganglioplégica. A existência de uma ação miotrópica da nicotina, tal como observaram Evans & Schild (1953) no intestino isolado do gato, não foi verificada, pois a nicotina não causou contração intestinal após a administração do brometo de hexametônio.

O bloqueio da excitabilidade indireta do músculo tibial anterior, com conservação de sua excitabilidade direta, pelo MI e EI nos leva a concluir por uma ação curarizante dêsses compostos.

Estas drogas apresentam as mesmas características de curarização que a d-tubocurarina e o dimetiléter da dimetilbebeerina; assim, em doses pequenas, elas impedem que o músculo se mantenha em contração, quando o estimulamos indiretamente com estímulos tetanizantes, fenômeno êste também observado com a d-tubocurarina (Luco & Rosenblueth, 1939) e com o dimetiléter da dimetilbebeerina (Vital Brazil, 1949). O fenômeno da facilitação pós-tetânica (Boyd, Brosnan & Maaske, 1938), observado para a d-tubocurarina (Hutter, (1952) e para o dimetiléter da dimetilbebeerina e outros derivados da bebeerina (Vital Brazil, 1949; Vital Brazil, Ramos & Corrado, 1960) também foi verificado durante as curarizações produzidas pelo MI e EI. A neostigmina antagonizou a curarização pelo MI e EI da mesma maneira que antagoniza a produzida pela d-tubocurarina (Burke *et alii*, 1948) ou pelo grupo da bebeerina (Vital Brazil, 1947; Vital Brazil, Ramos & Corrado, 1960). Êstes fatos sugerem que o MI e EI, agem como a d-tubocurarina e outros curares verdadeiros, competindo com a acetilcolina e diminuindo o potencial da placa terminal.

Na série de compostos que estudamos, verificamos que a maior atividade farmacológica corresponde aos derivados metílico e etílico, parecendo que a introdução de radicais com maior número de átomos de carbono acarreta uma perda de atividade sôbre os gânglios autonômicos e sôbre a junção neuromuscular. Aliás, a ação curarizante desaparece antes da ação ganglionar, pois o composto amílico não possui atividade curarizante porém é ganglioplégico. A não introdução de radicais na molécula condiciona uma menor potência farmacológica: a dose ganglioplégica da isocondrodendrina é cêrca de 10 a 20 vêzes maior do que a dose ganglioplégica de qualquer de seus derivados ora estudados.

Entretanto, o encontro de atividade ganglioplégica da isocondrodendrina é digno de nota, pois trata-se de uma droga cujo amôneo na molécula é terciário e não quaternário, como acontece com seus derivados.

A farmacologia do grupo da isocondrodendrina assemelha-se em muitos pontos à da série da bebeerina, quer no que se refere às suas ações neurovegetativas (Ramos, 1957), como às suas atividades estimulantes quando aplicados diretamente no S.N.C. (Vital Brazil, Seba & Campos, 1945; Ramos, 1957 b).

Algumas diferenças podem ser assinaladas entre as séries da isocondrodendrina, da bebeerina e da d-tubocurarina. Enquanto os derivados da bebeerina e a d-tubocurarina e seu derivado dimetílico são predominantemente curarizantes, nos derivados da isocondrodendrina prevalece a ação ganglioplégica. Essa diferença nos sugere que o núcleo bisbenzilisoquinoleínico influi, de maneira acentuada, nas propriedades farmacológicas de tôdas essas substâncias. Aliás, a importância do núcleo bisbenzilisoquinoleínico é também posta em realce se considerarmos que a sua destruição pela degradação de Hoffman acar-

reta diminuição ou perda das propriedades farmacológicas dos derivados metílico e etílico da bebeerina (Vital Brazil, Ramos, Corrado & Guimarães, 1954 e Ramos & Sperandio, 1954).

CONCLUSÕES

1) As drogas estudadas possuem atividade ganglioplégica. Foi verificado o bloqueio dos gânglios parassimpáticos do coração, da glândula submaxilar e do intestino, bem como do gânglio cervical superior. A ação dessas substâncias mostrou-se mais acentuada nos gânglios parassimpáticos que foram bloqueados com doses 3 a 7 vêzes menores que aquelas usadas para paralisarem o gânglio cervical superior.

2) A isocondrodendrina e o derivado diamílico não exercem ação na junção neuro-muscular. O MI e o EI produzem curarizações com as mesmas características que a curarização provocada pela d-tubocurarina.

3) A isocondrodendrina e derivados não exercem ação miotrópica negativa nem atropínica.

SUMMARY

1) The author studied the pharmacology of the isochondrodendrine (I) and its derivates by alkilation (0-methyl N-methylisochondrodendrine chloride (MI) 0-ethyl N-ethylisochondrodendrine chloride (EI) and 0-amyl N-amylisochondrodendrine iodide (AI).

2) A ganglioplegic action of the isochondrodendrine and its derivates was demonstrated by its ability to inhibit the effects of vagal stimulation, the pre-ganglionic excitation of the sympathetic cervical and the salivation produced by stimulation of the "chorda tympani".

3) The MI and EI produced a curarization with characteristics of a competitive curare.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acheson, G. H. & Pereira, S.A., 1946, The blocking effect of tetra-ethylammonium ion on the superior cervical ganglion on the cat. *J. pharm. exp. ther.*, 87: 273-280.

Acquarone, E., 1959, Um novo derivado da isocondrodendrina. III Congresso Farmacêutico e Bioquímico Panamericano; V Congresso Brasileiro de Farmácia, São Paulo.

Boyd, T. E., Brosnan, J. J. & Maaske, C. A. 1938, The summation of facilitating and inhibitory effects at the mammalian neuro-muscular function. *J. neurophysiol.*, 1: 497-507.

Brücke, E., Macho, W. & Werner, G., 1948, Über die lahmende Wirkung von Schlafmitteleln auf vegetative Ganglienzellen. *Wiener klin. Wsch.*, 59: 537-540.

Burke, S. C., Linegar, C. R., Franck, M. N. & McIntyre, A. R., 1948, Eserine and neostigmine antagonisme to d-tubocurarine. *Anesthesiology*, 9: 251-257.

Corbett, C. E., 1952, *Sôbre a ação de drogas curarizantes na secreção da glândula submaxilar do cão*. Tese, Fac. Med. Univ. S. Paulo.

Dumery, P. R., 1952, Notre expérience de la d-isochondrodendrine. *Sem. méd.*, 28 (26/27): 343-345.

Evans, D. H. L. & Schild, H. O., 1953, The reactions of plexus-free circular muscle of the cat jejunum to drugs. *J. physiol.*, 119: 376-399.

Gabbe, E., 1914, *Arch. int. pharmacodyn*, 24; 327 (1914-1918). (Cit. Hauschild).

Gley, P., Rothestein, R. & Delor, J., 1952, Sur le mechanisme d'action du sulfate d'isochondrodendrine. *C. R. Soc. Biol.*, 146: 13-15.

Hauschild, F., 1934, Zur Pharmakologie und Chemie des Curins. *Arch. Pathol. Pharmakol.*, 174: 743-754.

Hutter, O. F., 1952, Post-tetanic restauration of neuro-muscular transmission by d-tubocurarine. *J. physiol.*, 118: 216-227.

Kibjakow, T. W., 1933, *Pflügers Arch.*, 232. (Cit. Brücke, Macho & Werner).

Lauriat, J., 1952, *L'isochondrodendrine*. These, Paris, 1951. (Cit. Gley, Rothestein & Delor).

Luco, J. V. & Rosenblueth, 1939, Neuromuscular transmission ← Fatigue produced without contraction during curarization. *Amer. J. physiol.*, 126: 58-65.

Marsch, D. F. & Pelletier, M. H., 1948, The curariform activity of d-N-methyl-isochondrodendrine and d-O-methal-N-methyl-isochondrodendrine and d-O-methyl-N-methal-isochondrodendrine. *J. pharm. exp. ther.*, 92 (4): 414-418.

Orias, O., 1932, Response of nictitating membrane to prolonged stimulation of the cervical sympathetic. *Amer. J. Physiol.*, 102: 87-95.

Ramos, A. O., 1957, Sôbre a ação curarizante e ganglioplégica de alcalóides bi-benzil isoquinoleínicos do "Chondrodendrum platiphyllum". Comunicação na IX Reunião anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, Rio de Janeiro, julho de 1957. (Res. *Ciência e Cultura*, set.).

Ramos, A. O., 1957, *Contribuição ao estudo farmacodinâmico da isocondrodendrina e seus derivados por alquilação*. Tese, Fac. Med. Univ. S. Paulo.

Ramos, A. O. & Sperandio, L. G., 1954, Contribuição ao estudo farmacodinâmico dos dicloroetilatos dos O-di-etilbebeerino-etinas. *An. Fac. Med. Univ. S. Paulo*, 28: 175-186.

Seba, R. A., 1949, D-isocondrodendrina no tratamento da dismenorréia. *Rev. Bras. Med.*, 6: 522-527.

Sperandio, L. G. & Ramos, A. O., 1958, Efeitos da isocondrodendrina sôbre a secreção gástrica. *Rev. paul. med.*, 52 (5): 343-346.

Vital Brazil, O., 1947, Antagonisme entre le curare et prostigmine. Experience realizée sur le pigeon. *Bull. Acad. Méd.*, 17/18: 382.

Vital Brazil, O., 1949, Fenômenos de inibição e facilitação na junção mio-neural durante a curarização. *Bol. Soc. Arg. Cir.*, 10: 29.

Vital Brazil, O., Ramos, A. O., Corrado, A. P. & Guimarães, G. M. A., 1954, Contribuição ao estudo farmacodinâmico dos dicloroetilatos das O-metil-bebeerino-metinas. *Rev. Brasil. Biol.*, 15 (2): 127-136 .

Vital Brazil, O., Seba, R. A. & Campos, J. S., 1944, Propriedades curarizantes dos alcalóides alcali-solúveis metilados do "Chondrodendrum platyphillum" (St. Hil.), Miers. *Bol. Inst. Vital-Brazil*, 26: 8.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 79-95
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

OBSERVAÇÕES SÔBRE AS ESTRUTURAS MINERALIZADAS DO DENTE DE CAÇÃO DO GÊNERO "ODONTASPIS" (Selachii, Pisces) [1]

WILSON DA SILVA SASSO,
Departamento de Histologia,
Faculdade de Farmácia e Odontologia, São Paulo

HELENA DE SOUZA SANTOS
Departamento de Microscopia Electrônica,
Escola Politécnica, São Paulo

e

OCTAVIO DELLA SERRA
Departamento de Anatomia,
Faculdade de Farmácia e Odontologia, São Paulo

(Com 13 figuras no texto)

Dentre as várias espécies de seláquios que habitam as águas da faixa litorânea brasileira, destaca-se um cação do gênero *Odontaspis,* bastante comum no litoral sul do Estado de São Paulo. As espécies dêste gênero apresentam a bôca guarnecida por algumas séries de numerosos dentes alongados, em forma

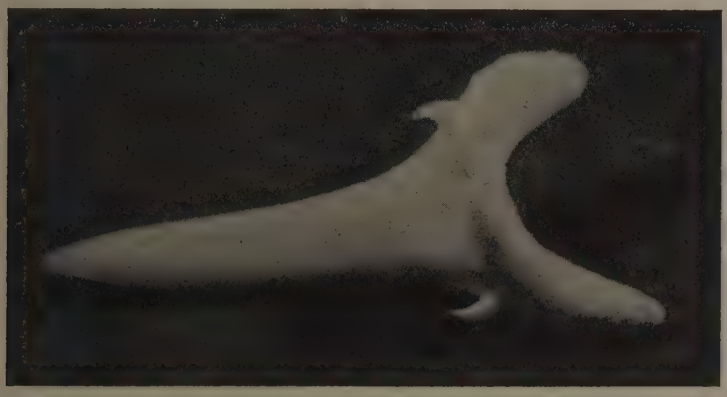


Fig. 1 — Dente de cação do gênero *Odontaspis,* visto pela face vestibular. Tam. nat. 3X

[1] Recebido para publicação a 15 de dezembro de 1960.
As fotomicrografias que ilustram êste trabalho foram tomadas com aparelhos fotográficos cedidos pelo CNPq.

de sovela, portando ou não dentículos laterais (2), conforme se pode ver na fig. 1.

A morfologia dessas peças dentais obedece ao plano arquitetônico geral dos dentes dos seláquios como os do gênero *Lamna*, por exemplo, onde não se verifica cavidade pulpar, preenchida que foi por um núcleo de osteodentina (10).

Estruturalmente, e segundo THOMASSET (19), os dentes do cação compõem-se de:

a) uma massa central ou ámago de osteodentina;

b) um estrato mais ou menos espesso de pseudo-dentina envolvendo o núcleo de osteodentina;

c) uma última camada denominada fibrodentina, bem mais dura que as outras, de superfície brilhante, e que reveste a pseudo-dentina.

Entretanto, a opinião de THOMASSET (19) não é esposada por todos, havendo autores que admitem concepção bastante diversa. A mais relevante das controvérsias diz respeito à natureza da camada dura e brilhante que recobre tais dentes. Enquanto TOMES (20), APPLEBAUM (1) e LISON (8, 9) consideram-na como esmalte verdadeiro, homólogo do esmalte dental da maioria dos peixes ósseos; outros, entre os quais RÖSE (12), SCHMIDT (15) e THOMASSET (19) chamam-na, respectivamente, de vitrodentina, durodentina ou fibrodentina, por julgá-la como uma forma de dentina modificada.

Todavia, um novo aspecto estrutural observado por LISON (8, 9) — presença de grãos de pigmento melânico entre o esmalte e a dentina — veio trazer maior evidência em apôio da hipótese adamantina do revestimento de tais peças dentais.

Com efeito, LISON, estudando os dentes dos seláquios dos gêneros *Scyllium* e *Raja* durante a odontogênese, observou que a derme entrava em contacto com o germe dental e levava por invaginação uma camada de melanóforos dérmicos, que se colocavam entre a dentina e o esmalte. Além disso, o crescimento centrífugo da camada adamantina dêsses dentes, à semelhança do que ocorre com o esmalte dos mamíferos, seria evidência relevante da homologia estrutural dos dois tecidos.

Mais recentemente, analisando o problema da estrutura do revestimento dos dentes dos seláquios, e não obstante ter anteriormente admitido a sua natureza adamantina, disse LISON (7): "aucun des arguments avancés en faveur de l'une ou de l'autre théorie n'a pu emporter la conviction générale".

Posto assim, resumidamente, o problema da natureza histológica do revestimento dos dentes dos seláquios, fomos levados a empreender investigações para tentar derimir as controvérsias, estudando aquela estrutura através da microscopia e difração eletrônicas, comparativamente analisadas com os resultados obtidos pela microscopia comum e de luz polarizada. A presente investigação parece-nos, pelo que pudemos depreender da nossa busca bibliográfica, a mais completa dentre tôdas levadas a efeito até o presente (13, 14, 16).

MATERIAL E MÉTODO

Para as nossas investigações utilizamos dentes sêcos e completamente desenvolvidos, extraídos da fileira dos dentes funcionais do cação adulto do gênero *Odontaspis*.

Os dentes foram seccionados, no sentido longitudinal e transversal, obtendo-se delgadas fatias lamelares com o auxílio de discos de esmeril girando em alta velocidade. Dado o calor que se desenvolvia durante a secção, o disco e a peça eram constantemente resfriados por jatos de água. Conseguida a fatia, era ela desgastada em pedras abrasivas (de grão fino e grosso), segundo técnica rotineira e, finalmente, polida com "white rouge" contra a superfície lisa de um vidro plano.

Um certo número de fatias, após lavagem e desidratação, eram montadas com bálsamo sêco entre lâmina e lamínula, e examinadas ao microscópio comum (modêlo Ortholux da Leitz). Outras fatias foram preparadas para a observação direta com luz polarizada, e outras ainda, para a microscopia e difração electrônicas.

Os estudos em luz polarizada foram feitos em um microscópio de polarização Leitz, examinando-se o material com o compensador Gips-rot I (tipo de birrefringência). As regiões coloridas constatadas nos quadrantes negativos (5), eram tangentes à superfície do dente.

Para as observações ao microscópio electrônico e porque o baixo poder de penetração do feixe electrônico não permite observação direta de uma superfície (17, 18), empregamos a chamada técnica de réplica que, desde o início da microscopia electrônica, vem sendo utilizada para o estudo de materiais que não podem ser obtidos ou que não existem "in natura", em fatias suficientemente delgadas. Por outro lado, essa é a única técnica que possibilita o exame, ao microscópio electrônico, de uma estrutura calcificada isenta de eventuais alterações decorrentes dos métodos de descalcificação. Pela técnica em questão, a superfície da estrutura é reproduzida em moldes, sob forma de uma película de espessura adequada, que assim são levadas ao microscópio electrônico em lugar da estrutura real.

Para a presente investigação foram feitas réplicas das superfícies dos cortes (longitudinais, transversais) e da superfície externa das várias camadas que constituem o dente do cação. As superfícies de corte, após polimento e secagem, foram submetidas à ação do HCl 0.1 N, durante 1 a 5 segundos, a fim de destacar os pormenores estruturais da peça.

Empregamos a técnica de réplica positiva descrita por Austin & Schwartz (3), tal como segue:

a) a solução de um plástico denominado "zapon" (Acquanite A lacquer) é aplicada sôbre a superfície do espécime e secado pelo calor de uma lâmpada;

b) em seguida faz-se uma réplica positiva da réplica negativa de "zapon", pela deposição de uma solução 0,15% de "formvar" (polyvinil formal) em dicloreto de etileno;

c) depois de sêca, a dupla película de "zapon-formvar" é colocada de modo que o "formvar" fique voltado para baixo, sôbre uma tela própria para microscopia electrônica, que por sua vez é posta sôbre uma grade metálica perfurada encerrada numa placa de Petri. Na dita placa coloca-se o acetato de amila, até que êste solvente do "zapon" atinja, sem cobrir, a tela para microscopia electrônica. Dêsse modo o "zapon" é dissolvido pelos vapores condensados de acetato de amila (fenómeno que usualmente ocorre dentro de 60 minutos), e assim a tela pode ser removida, levando tão sòmente a réplica de "formvar";

d) o contraste da imagem da superfície conseguida pela réplica é evidenciado pela evaporação obliqua de uma camada de crômo sôbre a réplica de "formvar".

A técnica de replicagem assim sucintamente descrita, permite a obtenção de uma réplica verdadeira ou de uma pseudo-réplica. Neste caso, fragmentos do material original ficam aderentes ao "zapon" e assim são transferidos para a réplica de "formvar". Na primeira eventualidade forma-se uma réplica tão sòmente de "formvar", que mostra o relêvo superficial representado pelas partes mais claras da imagem.

Muitas vêzes, o material original da superfície do dente, constituído por delgadíssimas camadas de cristais livres, incorpora-se na película plástica, assim permitindo o estudo dos cristais pela difração electrônica. Por êsse modo foram preparadas pseudo-réplicas de espessura conveniente para a microscopia electrônica. Para as observações em apréço, utilizamos o microscópio electrônico RCA tipo EMU (da Secção de Microscopia da Escola Politécnica), equipado com dispositivos para a difração electrônica.

As micrografias electrônicas, obtidas em aumentos de 2.000 a 4.000 diâmetros, foram estudadas em ampliações de 20.000 diâmetros. As micrografias aqui apresentadas são ampliações diretas das réplicas positivas das superfícies. Representam elas, portanto, o relêvo real da superfície.

RESULTADOS

I. Observações ao microscópio comum (luz transmitida)

Observando-se as lamelas do dente do cação (secções longitudinais e transversais), obtidas por desgaste e montadas entre lâmina e lamínula com bálsamo sêco, constata-se a seguinte disposição arquitetural (fig. 2):

a) uma massa central de osteodentina (OD), que corresponderia ao cavo pulpar dos dentes dos mamíferos;

b) uma camada mais ou menos espessa de pseudo-dentina (PD) envolvendo a já citada massa;

c) uma outra camada, mais delgada, porém mais compacta, com aspecto de dentina modificada (vitrodentina — VD — ou fibrodentina) ou esmalte (E); e por fim,

d) uma delgadíssima cutícula (Ct), com aproximadamente 5μ de espessura.

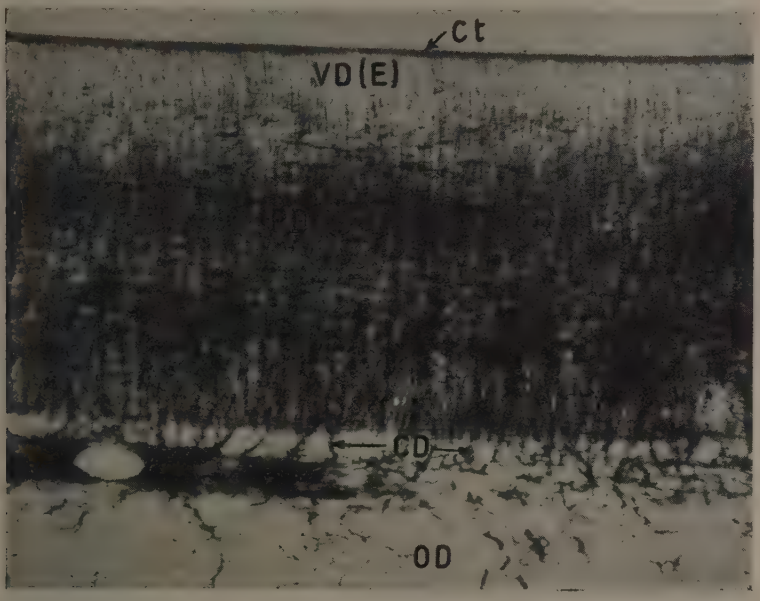


Fig. 2 — Corte longitudinal, obtido por desgaste, do dente do cação (OD = osteodentina, PD = pseudo-dentina, CD = canalículos dentinários, VD(E) = vitrodentina ou esmalte, Ct = cutícula). 500X.

a) *Núcleo de osteodentina.* Êste tipo de dentina encontra-se ocupando quase tôda a cavidade pulpar e nela se observam canais tortuosos ou retilíneos, de calibre muito irregular, quase sempre ramificados e reunidos, de espaço a espaço, por curtos canais anastomóticos (CA). Êsses canais receberam o nome já clássico de canais pulpares (CP) (figs. 3 e 4). Em cortes transversais vêm-se espaços irregularmente circulares, ovalares, e até em cifra oito, constituindo a quase totalidade da massa de osteodentina. Cada espaço do canal pulpar é contornado por numerosas lamelas dispostas concêntricamente, conjunto que lembra com certa fidelidade a disposição lamelar nos sistemas haversianos (fig. 5). Destacando-se do contôrno dos canais pulpares, e em tôda a sua extensão, existem numerosos canalículos (CD), também muito ramificados, à maneira de arborização. As lamelas (L) constituintes das paredes do canal pulpar, são atravessadas por numerosos canalículos que se anastomosam com os dos sistemas vizinhos (fig. 5).

b) *Pseudo-dentina*. Localizada na periferia da osteodentina, a dita camada é representada por inúmeros tufos constituídos por canalículos denti-

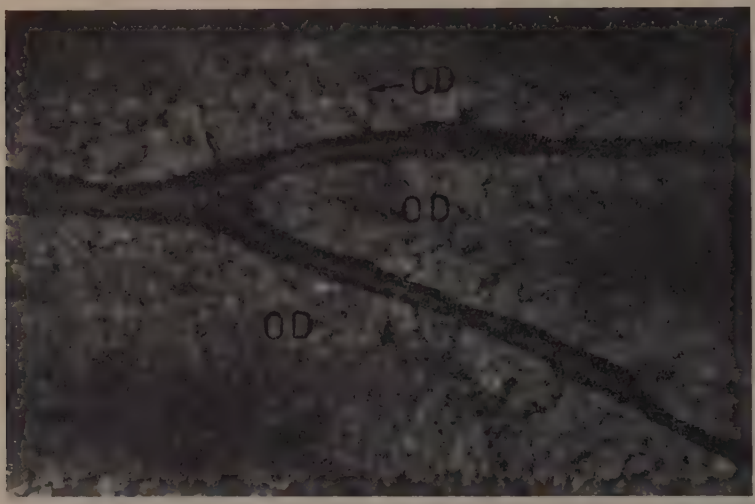


Fig. 3 — Secção longitudinal de osteodentina (OD) do dente do cação, obtida por desgaste, observando-se um canal pulpar (CP) ramificado, de onde se destacam os canalículos dentinários (CD). 400X.

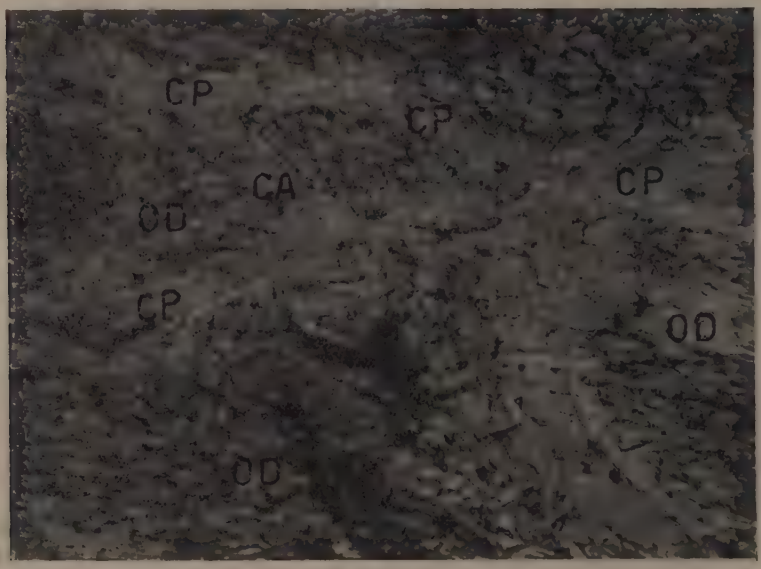


Fig. 4 — Secção longitudinal da osteodentina (OD), obtida por desgaste do dente do cação, para mostrar as anastomoses (CA) dos canais pulpares (CP). 400X.

nários (CD), de ramescência divergente, que se dirigem perpendicularmente à superfície do dente (fig. 6). Os canalículos originam-se dos canais pulpares

(CP) da osteodentina, que decorrem paralelamente à superfície do dente. Abundantemente ramificados desde sua base de implantação no canal pulpar, os canalículos são de calibre muito irregular. Além do mais, a pseudo-dentina apresenta ainda cristalitos (CC) orientados, na sua maioria, paralelamente à superfície do dente, isto é, perpendicularmente aos canalículos (fig. 6).

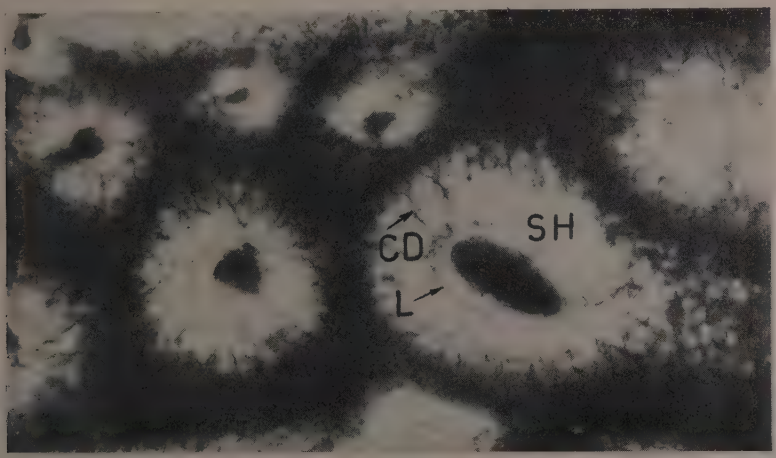


Fig. 5 — Corte transversal da osteodentina do cação, obtida por desgaste, vendo-se os sistemas pseudo-haversianos (SH), as lamelas (L) e os canalículos dentinários (CD). 400X.

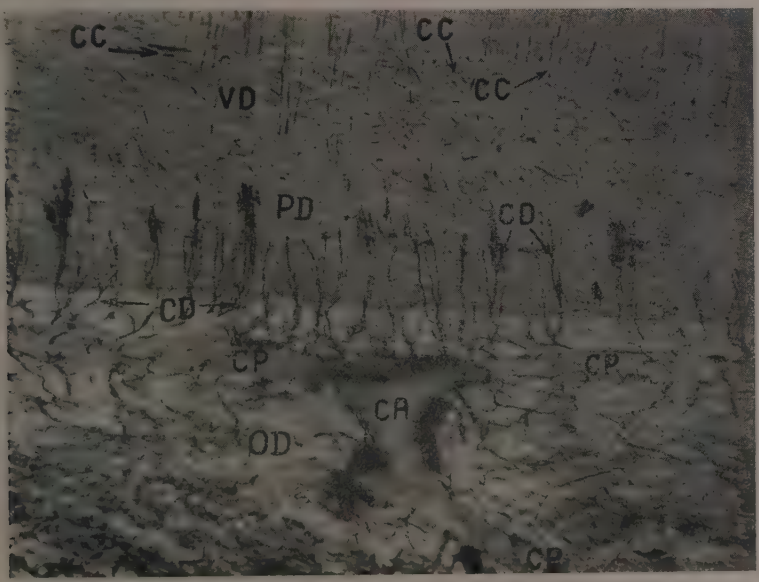


Fig. 6 — Corte longitudinal, obtido por desgaste, do dente do cação, onde se observa, a osteodentina (OD) com canais pulpares (CP) unidos por canal anastomótico (CA), a peudo-dentina (PD) com os canalículos dentinários (CD) e a vitrodentina (VD) com os cristalitos (CC). 400X.

c) *Vitrodentina (hialodentina), fibrodentina ou esmalte.* Trata-se de uma camada compacta, desprovida de canalículos, porém, plena de feixes de grandes cristalinos dispostos, na sua maioria, perpendicularmente à superfície do dente. Cristalitos de tamanho menor e orientados paralelamente à superfície do dente, também podem ser vistos. Nesta camada ainda pudemos visualizar formações alongadas, dispostas em palissada e distribuídas perpendicularmente à superfície do dente (figs. 2 e 6).

d) *Cutícula.* Revestindo a vidrodentina verifica-se a presença, em alguns cortes longitudinais de dentes montados em bálsamo, de uma camada ainda mais compacta e de aproximadamente 5μ de espessura (fig. 2).

II. Observações feitas com o microscópio de luz polarizada

O exame com luz polarizada procedido em fatias isoladas (não montadas) e montadas em bálsamo, revelou o seguinte:

a) No núcleo de osteodentina, as secções transversais mostram que a parede dos canais ou o sistema de lamelas concêntricas, apresentam uma cruz de polarização, indicativa de que os sistemas são birrefringentes (fig. 7).

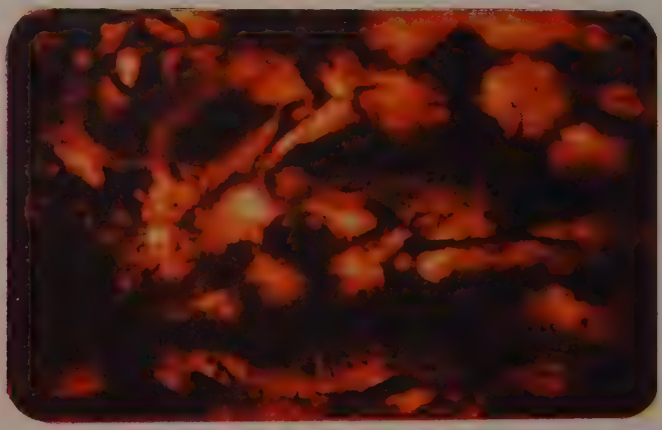


Fig. 7 — Corte transversal, obtido por desgaste, da osteodentina do cação examinada ao microscópio de polarização e onde se vê a cruz de polarização do sistema pseudo-haversiano. 150X.

Colocando-se o compensador Gips-rot I, e agora analisando os cortes longitudinais, constata-se, com referência aos quadrantes negativos (5), uma forte e homogênea birrefringência positiva (côr amarela intensa) ao nível das lamelas que constituem as paredes dos canais pulpares

b) Na pseudo-dentina, e em cortes longitudinais, vê-se fraca birrefringência. Intercalando-se o compensador de gêsso comprova-se uma ligeira birrefringência negativa (côr azul) com referência aos quadrantes negativos (5).

c) Na camada de vitrodentina, fibrodentina ou esmalte, constatou-se fraca birrefringência com o compensador de gêsso, e nos quadrantes negativos ela se mostrou positiva (vermelho tendendo para o amarelo).

d) A cutícula de revestimento, que só foi constatada em material montado em bálsamo, mostrou-se birrefringente entre nicóis cruzados. Com a intercalação do compensador, em quadrantes negativos, constatou-se intensa birrefringência negativa (côr azul).

III. Observações feitas com o microscópio electrônico

O exame das réplicas positivas das secções transversais e longitudinais, e também da superfície exterior do dente do cação, revelou as seguintes estruturas: formações semelhantes aos prismas do esmalte humano (PP), um componente cristalino (CC), elementos fibrilares sem estrutura (SP) (FS), canalículos (CD), fibras delgadas (FD) e uma matriz homogênea.

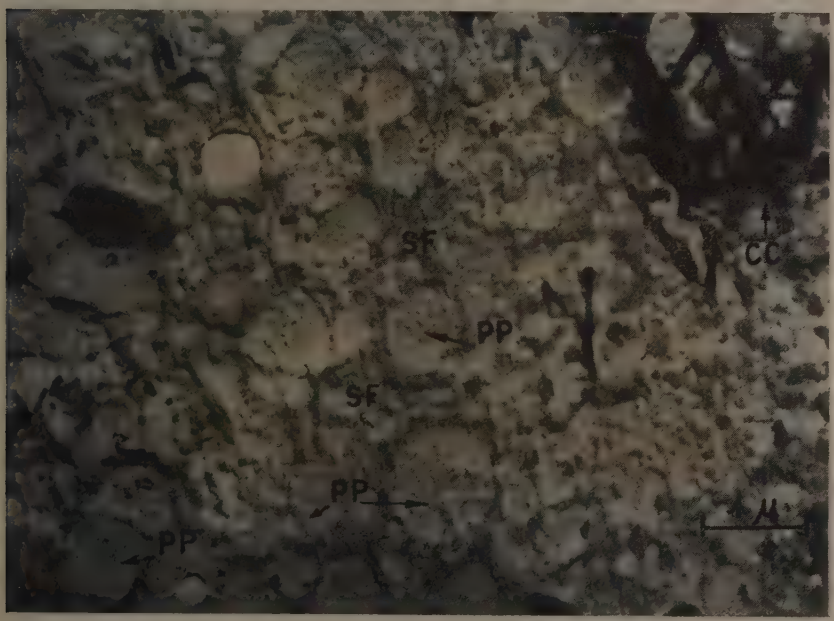


Fig. 8 — Micrografia electrônica ampliada de uma réplica positiva da superfície do dente do cação, onde se observam: pseudo-prismas (PP), componente fibrilar (SF) e componente cristalino (CC). 14000X.

As formações adamantiformes (PP) mostram-se como depressões de contôrno arredondado, cujas paredes medem, aproximadamente, de 0,3 a 1,0μ de espessura. Essas formações são de volume muito variável, e acham-se irregu-

larmente colocadas na superfície do dente, como bem se pode ver na figura 8. A fig. 9, por sua vez, representa uma micrografia electrônica onde se aprecia a disposição longitudinal dêsses pseudo-prismas.

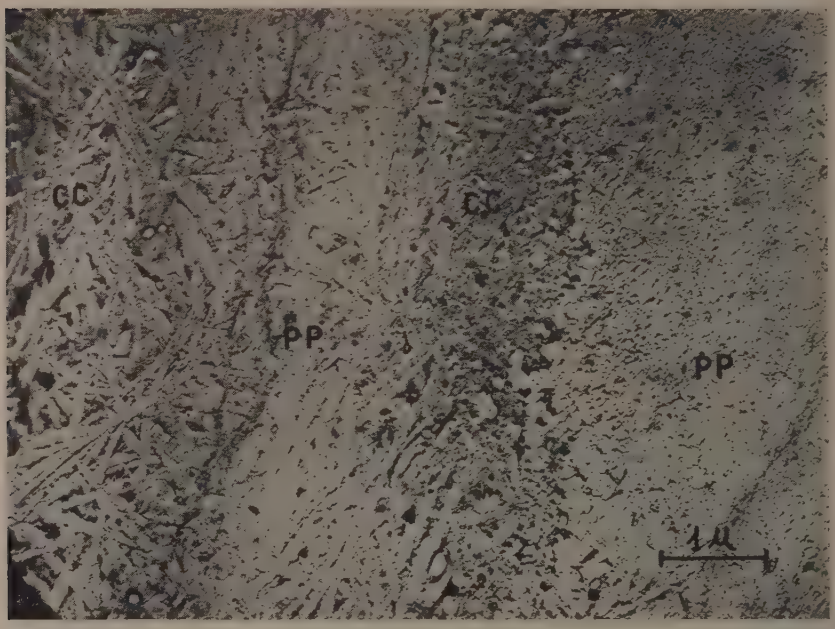


Fig. 9 — Micrografia electrônica ampliada de uma réplica positiva, do dente do cação, mostrando os pseudo-prismas (PP) em disposição longitudinal, separados pelo componente cristalino (CC). 14000X.

O componente cristalino (CC), da zona que reveste a pseudo-dentina é morfològicamente muito semelhante ao esmalte humano (13). Êsse componente cristalino pode ser melhor estudado quando vem aderido ao plástico utilizado para a obtenção de uma pseudo-réplica. A fig. 10 mostra que o componente cristalino é formado por feixes de bastonetes de comprimento variável, dispostos paralelamente ao seu eixo maior e com cêrca de 200 a 900 Å de diâmetro. Ainda na fig. 10, que é réplica da secção longitudinal do dente, os feixes dispõem-se paralelamente à superfície da réplica, e portanto, mais ou menos paralelos à superfície de secção, porém, perpendicularmente à superfície do dente. Estas observações confirmam os achados pelo microscópio ótico.

O componente fibrilar (SF) é representado pelos conjuntos fibrilares que se encontram entre os prismas (fig. 8). As fibrilas são de comprimento variável e dispõem-se em diversos sentidos.

Na fig. 11 pode-se ver os assim chamados canalículos dentinários (CD), as fibras delgadas (FD), as fibras sem estrutura (FS) e a matriz.

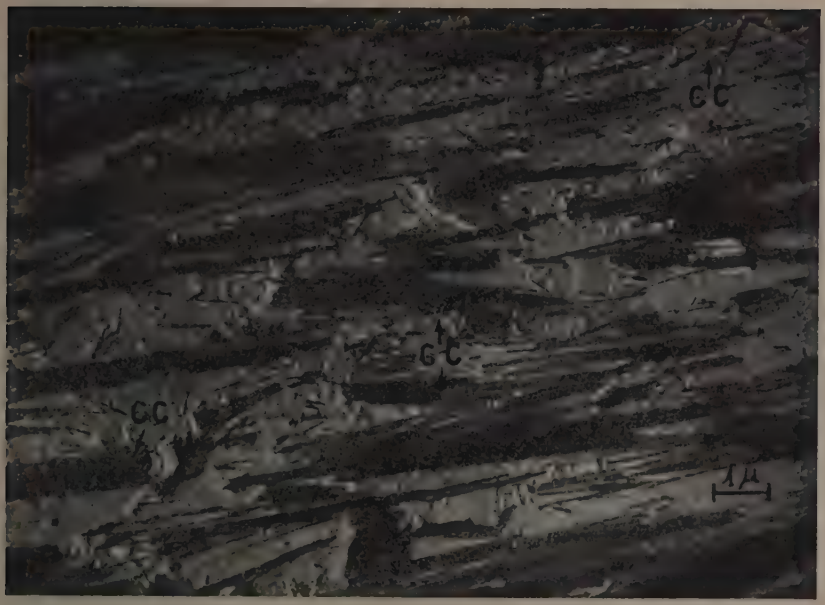


Fig. 10 — Micrografia electrônica ampliada de uma pseudo-réplica do dente do cação, mostrando os feixes do componente cristalino (CC). 8000X.

Fig. 11 — Micrografia electrônica ampliada de uma réplica positiva do dente do cação, onde se notam: canalículos dentinários (CD), fibras dentinárias (FD) e fibras sem estrutura (FS). 2500X.

Os canalículos aparecem como depressões arredondadas, com uma parte central menos densa, e vez por outra exibem uma massa escura que parece corresponder à fibra dentinária (13). As estruturas citadas podem ser bem distinguidas na fig. 12, onde a fibra dentinária do interior canalicular é perfeitamente identificada como uma massa escura situada em posição excêntrica. Ao que tudo leva a crer, tais massas são formadas por fragmentos de fibras que se romperam durante o processo de replicagem. Além disso, fragmentos maiores de fibras delgadas (FD), acham-se dispersas sôbre a superfície da réplica. Os canalículos dispõem-se em palissadas de distribuição irregular, que nas réplicas positivas aparecem como zonas mais escuras. Nessas zonas aparecem fibras delgadas e sem estrutura (FS), cuja natureza se desconhece (14), e que também se encontram dispersas por tôda a matriz, de onde convergem para as palissadas canaliculares. A disposição arquitetônica dêsses canalículos é diferente daqueles da dentina humana, porém, ambos apresentam uma fibra no seu interior, de morfologia bastante semelhante à fibrila de Tomes (FD).

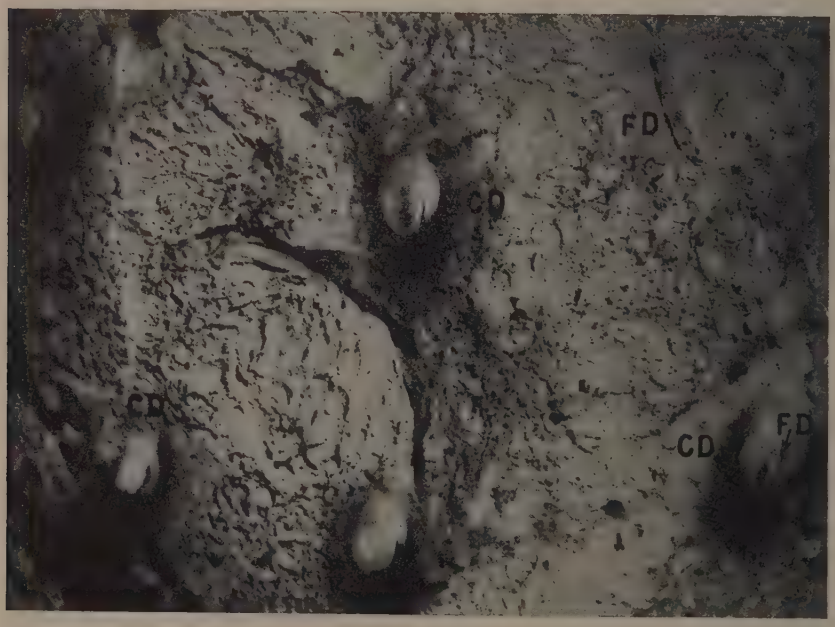


Fig. 12 — Micrografia electrônica ampliada de uma réplica do dente do cação, onde se observam: canalículos dentinários (CD), fibras dentinárias (FD) e fibras sem estrutura (FS). 10000X.

IV. Observações feitas por difração electrônica

As pseudo-réplicas, examinadas por difração electrônica, exibem figuras típicas de interferência cristalina, produzidas pelos feixes de bastonetes mostrados na fig. 13, podendo-se dizer, por isso, que êles são cristalinos.

Comparando-se o espaçamento dos anéis de interferência e a intensidade relativa dêsse componente cristalino, com os anéis de difração da apatita natural obtidos por Raios X, verifica-se concordância satisfatória quer nos espaçamentos quer nas intensidades relativas dos anéis de difração. Isso mostra que o componente cristalino é constituído por apatita.

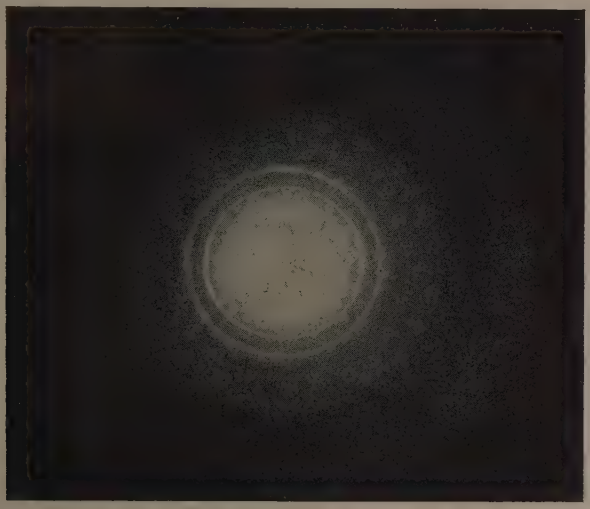


Fig. 13 — Difração electrônica produzida pelos feixes de bastonetes de uma pseudo-réplica. O diagrama observado indica tratar-se de uma estrutura cristalina constituída por apatita.

DISCUSSÃO

Os resultados de nossas observações confirmam, em parte, os achados de Thomasset (19), referentes ao plano arquitetônico geral dêsses dentes de seláquios, constituídos que são: por um ámago de osteodentina, revestida por uma camada de pseudo-dentina. Contudo, acreditamos poder acrescentar que a osteodentina do dente do cação pertence ao tipo pseudo-haversiano (7). Esta afirmação fundamenta-se não só na morfologia (através do exame de cortes transversais e longitudinais), mas também, nos aspectos revelados pela luz polarizada.

Com efeito, a luz polarizada mostrou não sòmente a clássica cruz de polarização, localizada na parede de um canal pulpar seccionado transversalmente (fenômeno que indica disposição concêntrica das fibras colágenas), como ainda, intensa e homogênea birrefringência positiva (côr amarela intensa em quadrantes negativos) ao nível das lamelas que constituem as paredes dos canais pulpares.

Não obstante a abundância de colágeno, não pudemos observar, ao microscópio electrônico, fibras colágenas. Tal fato encontraria explicação no tipo de ataque químico a que foi submetido o material de estudo.

No que respeita à pseudo-dentina, as nossas observações confirmam plenamente os achados de THOMASSET (19), que: "deu êste nome à um tecido situado ou não na periferia do núcleo de ostcodentina, e que se acha crivado de canalículos mais regulares do que os da osteodentina, porém não tão finos nem tão regulares como os da ortodentina" (4).

Ainda no entender de THOMASSET (19), enquanto o tronco principal do canalículo de ortodentina emite pequenos ramos colaterais em ângulo reto, e que ocorrem próximo da sua terminação, os canalículos da pseudo-dentina são ramificados desde a sua origem no tronco. Além do mais, estas ramificações são longas e flexuosas (4).

Ao microscópio electrônico, os canais de pseudo-dentina mostram disposição diferente, ainda que contivessem, como nos dentes de outras espécies, uma fibra no seu interior. As citadas fibras, constituídas por paredes delgadas, lembram a estrutura geral das fibras de Tomes do dente humano.

No que respeita à camada que reveste a pseudo-dentina, denominada vitrodentina (12), durodentina (15) ou fibrodentina (19), nossa opinião é contrária a de muitos autores, por isso que nossas verificações indicam tratar-se de uma estrutura adamantina, como já haviam sugerido APPLEBAUM (1), LISON (8, 9) e TOMES (20).

Nossa afirmação fundamenta-se na morfologia estrutural dessa camada que, observada em cortes longitudinais, exibe formações alongadas, de grande eixo perpendicular à superfície do dente, lembrando a disposição e o aspecto dos prismas do esmalte.

As verificações feitas pela luz polarizada, nessa mesma região, conduzem-nos a duas interpretações: a) em relação à tangente do dente, a birrefringência é do tipo positivo; b) em relação à disposição dos cristalitos (que se dispõem perpendicularmente à superfície do dente), a birrefringência é do tipo negativo, porém muito fraca.

Pelo exposto, parece-nos lícito poder contestar, com base nas nossas observações feitas ao nível da superfície do dente em questão, os tipos de dentina admitidos até agora.

Dessa maneira, e de acôrdo com LEVI (6), a vitrodentina seria monorrefringente. A durodentina, que SCHMIDT (15) admite não possuir colágeno, apresentaria fraca birrefringência negativa (decorrente da presença de cristais de hidroxiapatita), em relação à tangente do dente. E por fim, a fibrodentina, homóloga das variedades anteriores, seria monorrefringente ou exibiria uma fraca birrefringência negativa.

Como se pode ver, nenhuma das alternativas retro-citadas refere à possibilidade da birrefringência positiva, em relação à tangente do dente, e birrefringência negativa, perpendicularmente à superfície do dente.

Aceitando-se a primeira das interpretações aventadas (birrefringência positiva em relação à tangente do dente), há que se admitir a possibilidade da

presença de fibras colágenas nesta camada. Essas fibras predominariam sôbre os cristais de apatita, que apresentam birrefringência de sinal oposto e sempre mais fraca, e seriam as responsáveis pela birrefringência positiva.

Entretanto, admitindo-se a segunda interpretação (birrefringência negativa, perpendicular à superfície do dente), a que parece-nos a mais provável, a birrefringência constatada correria por conta da predominância de cristalitos de apatita. Tal tipo de birrefringência é, para o nosso entender, uma evidência de uma estrutura rica em apatita, como o são as estruturas adamantinas dos dentes de vertebrados superiores.

As evidências sôbre a natureza adamantina do revestimento do dente do cação se acentuam ainda mais quando, através do microscópio electrônico, constata-se a presença de estruturas semelhantes a prismas, muito provàvelmente formadas pelos bastonetes cristalinos. As pseudo-réplicas, contendo feixes de bastonetes, examinadas em difração electrônica, confirmam plenamente o que afirmamos.

Comparando-se as medidas dos espaçamentos e intensidades relativas do componente cristalino, com dados de difração pelos Raios X da apatita natural, constata-se concordância muito satisfatória, quer quanto ao valor dos espaçamentos, quer quanto à intensidade relativa. Por essas razões somos levados a concluir, conforme já relataram Souza Santos & Sasso (16), que os bastonetes do esmalte do cação são cristalinos e possuem a mesma estrutura da apatita natural, e com disposição estrutural semelhante ao do próprio esmalte humano.

Pelo que acabamos de expôr, devemos admitir que a ultraestrutura da substância que reveste o dente do cação (*Odontaspis*) é constituída por um componente cristalino, identificado como apatita natural (16), e por formações semelhantes aos próprios prismas adamantinos humanos (14). Nossas observações consubstanciam fortes evidências favoráveis à presença de um verdadeiro esmalte revestindo o dente do cação.

Novo problema surge agora, dizendo respeito à localização do esmalte do dente do cação. Seria o esmalte a própria vitrodentina, ou seria êle tão sòmente representado pela cutícula?

Aceitando-se a primeira hipótese, deveremos admitir que a vitrodentina (fibrodentina ou durodentina) é esmalte e não dentina modificada. Escolhendo-se a segunda hipótese, teremos a cutícula (que exibiu intensa birrefringência negativa à luz polarizada) representando uma camada de esmalte que reveste a dentina modificada. Sendo assim, teríamos reunido as opiniões e dirimido as controvérsias entre os autores, admitindo-se a existência de dentina modificada revestida por uma delgada camada de esmalte.

Em suma, parece-nos lícito poder afirmar que a morfologia geral da ultraestrutura do dente do cação (gên. *Odontaspis*), vista através do microscópio electrônico, é muito semelhante à do dente humano.

RESUMO

O presente trabalho é uma contribuição ao estudo das estruturas mineralizadas do dente do cação (género *Odontaspis*) em particular, da camada que reveste a superfície das suas peças dentais.

O material utilizado para êste estudo constou de delgadas fatias de dentes, obtidas por desgaste e polimento, e observadas através do microscópio ótico comum, luz polarizada, microscopia e difração electrônicas.

Nossas observações mostram que o dente do cação é fundamentalmente constituido por um ámago de osteodentina pseudo-haversiana, envolvida por um estrato de pseudo-dentina. Esta, por sua vez, é recoberta por uma camada dura, brilhante e intensamente birrefringente, clàssicamente conhecida pelo nome de vitrodentina (fibrodentina ou esmalte).

A microscopia electrônica demonstrou, através de réplicas positivas de secções longitudinais e transversais do dente, que a ultraestrutura da vitrodentina é morfològicamente muito semelhante à do esmalte dos mamíferos, e muito rica em componente cristalino. Por sua vez, a difração electrônica, estudada por meio de pseudo-réplicas, evidenciou que o referido componente é uma apatita.

SUMMARY

This paper is a contribution to the study of the mineralized structures of the shark's teeth (gen. *Odontaspis*), in particular of the superficial layer.

Thin slices of the teeth were obtained by grinding and polishing. They were studied with both optical and polarizing microscopy and electronic microscopy and diffraction.

Our observations show these teeth to be fundamentally constituted by a internal mass of pseudo-haversian osteodentin, surrounded by a layer of pseudodentin. This is, in its turn, covered by a hard, shining, and intensely birefringent layer, known as vitrodentin.

Electronic microscopy revealed in positive replications of the longitudinal and transversal sections that the ultrastructure of the vitrodentin is morphologically similar to that of the enamel of the mammals and very rich in crystalline components. Electronic diffraction studied with the aid of pseudo-replications, showed that the above mentioned component is an apatite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Applebaum, E., 1942, Enamel of shark's teeth. *J. dent. Res.*, 21 (3): 251-257.
2. Arambourg, G. & Bertin, L., 1958, Sous-classes des Sélaciens (Selachii). *In*: Grassé, P. P., *Traité de zoologie*, vol. 13, Masson, Paris (cf. p. 2016).
3. Austin, A. E. & Schwartz, C. M., 1951, Modifications of a positive replica technique for electron microscopy. *J. appl. Physiol.*, 22 (6): 847-848.

4. Bertin, L., 1958, Denticules cutanés et dents. *In*: Grassé, *P. P., Traité de zoologie*, vol. 13, Masson, Paris (cf. p. 505).

5. Gustafson, A. G., 1959, *A morphologic investigation of certain variations in the structure and mineralization of human dental enamel*. 112 p. ilust., (Malmö) Royal Dental School.

6. Levi, G., *Apud* Bertin, L. — ref. n.º 4.

7. Lison, L., 1954, Les dents. *In*: Grassé, P. P., *Traité de zoologie*, vol. 12, Masson, Paris (cf. p. 791).

8. Lison, L., 1949, Recherches sur l'histogenèse de l'émail dentaire chez les Sélaciens. *Arch. Biol.*, 60 (2): 111-135.

9. Lison, L., 1946, Sur la nature de l'émail dentaire chez les Sélaciens. *C. R. Soc. Biol.*, Paris, 140 (17/18): 1239-1240.

10. Marquard, E., 1946, Beiträge zur Kenntnis des Selachiergebisses. *Rev. Suisse Zool.*, 53 (1): 73-132 (*Apud Biol. Abstr.*, 21 (10): 26.170, 1947).

11. Poole, D. F. G., 1956, The fine structure of the scales and teeth of *Raia clavata*. *Quart. J. micr. Sci.*, 97 (1): 99-107 .

12. Röse, C., 1898, Ueber die verschiedenen Abänderungen der Hartgewebe bei niederen Wilbertieren. *Anat. Anz.*, 14 (1/3): 21-31.

13. Sasso, W. S. & Souza Santos, H., 1961, Electron microscopy of enamel and dentin of teeth of the Odontaspis (Selachii). *J. dent. Res.*, 40: 49-55.

14. Sasso, W. S. & Souza Santos, H., 1959, Estudo comparado da ultraestrutura do dente humano e do cação (*Odontaspis* sp.) ao microscópio electrônico. *An. Fac. Farm. Odont. Univ. S. Paulo*, 16: 197-211.

15. Schmidt, W. J., *Apud* Lison, L. — ref. n.º 7.

16. Souza Santos, H. & Sasso, W. S., 1961, Electron diffraction and electron microscopy studies of the crystalline component of enamel of the *Odontaspis* (Selachii). *Experientia*, 17: 17-19.

17. Souza Santos, H. & Souza Santos, P., 1957, O microscópio electrônico e suas aplicações à química e à tecnologia. *Rev. Politec.*, 49 (169): 41-58.

18. Souza Santos, P. & Souza Santos, H., 1957, Microscopia electrônica. Técnica e aplicações em Odontologia. *Rev. Ass. Paul. Cir. Dent.*, 11 (1): 13-23.

19. Thomasset, J. J., 1930, Recherches sur les tissus dentaires des poissons fossiles. *Arch. Anat.*, 11 (1/4): 5-153.

20. Tomes, C. S., 1914, *A manual of dental anatomy human and comparative*, 7th ed., Blakiston, Philadelphia (cf. p. 30).

Rev. Brasil, Biol., 21(1) : 97-103
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

DETERMINATION OF SERUM CERULOPLASMIN OXIDATIVE ACTIVITY [1]

LUIZ A. ABREU *
Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

(With 4 text-figures)

Holmberg & Laurell (1948) isolated from porcine and human plasma a cuproprotein which they called ceruloplasmin. Approximately 95 per cent of human plasma copper is normally present in ceruloplasmin which is an α-globulin with molecular weight of 151,000 containing 0.34 per cent copper (8 atoms of the metal per molecule).

Recently, there has been marked interest in the possible role of ceruloplasmin in various pathological conditions, notably schizophrenia (Kety, 1959) and hepatolenticular degeneration (Markowitz *et alii*, 1955).

Ceruloplasmin, like a number of other copper-proteins, is an enzyme having oxidase activity (Holmberg & Laurell, 1951). It oxidizes p-phenylenediamine and related substances to colored compounds. Methods of estimation using this property were described by Ravin (1956), Akerfeldt (1957), Humoller *et alii* (1958), Houchin (1958) and Broman (1958).

The present report details an improved method for the simple and rapid estimation of ceruloplasmin oxidative activity.

Acknowledgments — The author should like to thank Dr. Gilberto G. Villela, Head of the Biochemical Laboratory, Instituto Oswaldo Cruz, for interest and constant encouragement; Dr. H. O. Singher for the generous gift of ceruloplasmin; Dr. Yvon T. Rodrigues for the sera of children; and also Mr. Francisco R. Gomes for technical assistance.

MATERIALS AND METHODS

The adult subjects studied were healthy individuals of both sexes (20 males and 9 females) ranging in age from 20 to 45 years, who were actively engaged in their work as laboratory technicians. Determinations in 4 cases of

[1] Received for publication December 6, 1960.

* Fellow of the National Research Council of Brasil.

uncomplicated pregnancy were also made. Ten normal children by physical examination (3 males and 7 females), ranging in age from 6 months to 5 years and 2 male children (18 months of age) with lipoid nephrosis were also studied.

Male rats of the Wistar strain weighing 270-330 g were used. They were fed "ad libitum" a standard balanced diet and grown always in the same environment.

Venous blood was collected from human subjects in the fasting state. The rats were kept fasting for 16 hours, and blood samples obtained by heart puncture under light ether anesthesia.

About one hour after clotting, the sera were separated and either used immediately or stored at -10°C. The maximum time of storage in these cases was 48 hours. Only sera without any trace of hemolysis were used.

Reagents:

a) Molar acetate buffer, pH 6.0: 136 g of sodium acetate trihydrate are dissolved in 850 ml of distilled water, adjusted to pH 6.0 using hydrochloric acid and diluted to 1000 ml.

b) Substrate: 100 mg of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride (DPP) Merck (mol. wt. 209.12) are dissolved in double distilled water and the volume completed to 100 ml. This reagent is stable for one day in the cold.

c) Ethylenediamine tetracetic acid disodium salt (EDTA) solution: 10 mg of EDTA in 100 ml.

d) Potassium thiocyanate 0.2 M.

e) DPP solution containing 2 micromoles per ml.

f) Solution of potassium ferricyanide, 4 micromoles per ml.

Procedure:

1) Into a test tube (18 × 150 mm) add: 0.1 ml of serum, 1.0 ml of buffer, and 0.1 ml of EDTA solution. The volume is adjusted to 2.5 ml with distilled water, the contents are mixed and let stand 5 minutes at 37°C in a water bath.

2) Add 0.5 ml of the substrate, mix quickly and incubate at 37°C for exactly 15 minutes.

3) At the 15th minute the reaction is stopped by adding 1 drop of thiocyanate solution. After mixing, 3.0 ml of distilled water are pipetted and mixed once more. Optical density readings are taken against water in an Unicam spectrophotometer at 552 mμ with 10 mm cells. The color is stable for 20 minutes.

4) A control tube without serum and a serum blank omitting the substrate are run in the same way, and the readings subtracted from that obtained with the complete system.

5) In a series of test tubes with the system of step (1), without serum, increasing concentrations of DPP from 0.2 to 1.0 micromol are pipetted off and the oxidation performed with the potassium ferricyanide solution. For complete oxidation ferricyanide is added in the ratio of 4 micromoles per 1 micromol of DPP (Tong, 1954). Of course, adjustments of the volume of the system to 3.0 ml are made with distilled water. Since the development of the color is instantaneous the incubation at 37°C is omitted and step (3) performed without the 15 minutes waiting period. Extinction readings are taken immediately and subtracted from blanks containing the corresponding concentrations of ferricyanide without DPP.

6) Ceruloplasmin oxidative activity is expressed in units per 100 ml of serum, one unit being equivalent to the oxidation of 1 micromol of DPP in 15 minutes at pH 6.0 and 37°C in the conditions described.

RESULTS AND DISCUSSION

Fig. 1 shows a standard curve obtained by oxidation of DPP with ferricyanide. The reaction follows Beer's law up to 0.8 micromol of DPP.

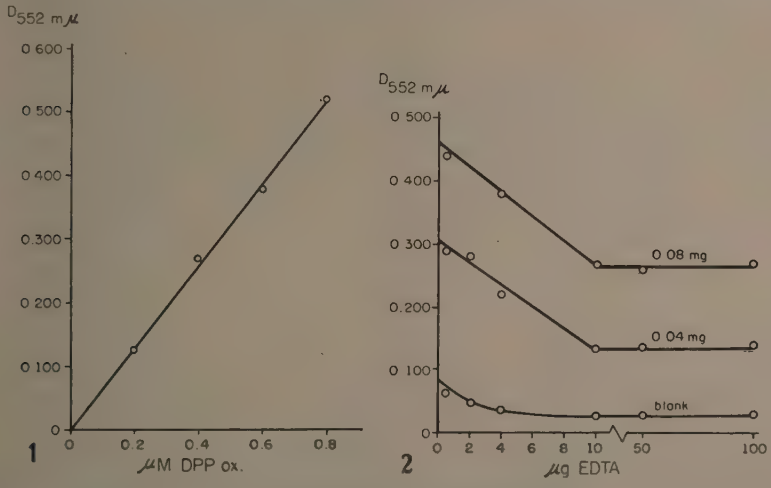


Fig. 1 — Standard curve of DPP oxidation by potassium ferricyanide; fig. 2 — effect of EDTA on the auto-oxidation of the substrate.

The optimum concentration of EDTA in the system was attained by experiments using a purified ceruloplasmin preparation generously supplied by Dr. H. O. Singher from Ortho Research Foundation, Raritan, New Jersey, U.S.A. This preparation (N.° CH-181) contains 22 mg of protein per ml in a phosphate buffer of pH 7.4, and was used in volumes corresponding to 0.04 and 0.08 mg of protein. Fig. 2 clearly shows that 10 μg of EDTA were

sufficient for supression of auto-oxidation of the substrate. Using this concentration of chelating agent per test tube, blank readings were always in the range of 0.020 to 0.030 optical density units. This is in accordance with the findings of HUMOLLER *et alii* (1958) and those of BROMAN (1958). These authors have pointed out that EDTA greatly enhances the specificity of DPP oxidation by ceruloplasmin.

A typical effect of the incubation time on the reaction carried out with 0.1 ml of rat serum can be seen from fig. 3. Similar curves were obtained with human serum and also with purified ceruloplasmin. Up to 20 minutes the enzymatic reaction follows zero order kinetics. Lag periods, commonly observed by other techniques (AKERFELDT, 1957) (HUMOLLER *et alii*, 1958), were never found. Our results probably indicate that ascorbic acid, at physiological levels, had no influence in the present method. This reasoning was substantiated by experiments in which known amounts of ascorbic acid were added to serum "in vitro", and the oxidase activity measured immediately. In Table I results of a representative experiment with rat serum are recorded. It can be seen that the addition of 5 mg of ascorbic acid per 100 ml of serum produces an inhibition of only 2%. This concentration of the vitamin is far higher than that of the physiological levels in rats and human beings (ALBRITTON, 1952).

TABLE I

Effect of "in vitro" addition of ascorbic acid to rat serum on ceruloplasmin activity

Ascorbic Acid mg/100 ml	Ceruloplasmin units/100 ml	Inhibition %
0	361	0
5	354	2
10	269	26
15	254	30
25	115	68
50	0	100

The linear relationship between ceruloplasmin oxidative activity and variable concentrations of human serum is shown in a typical curve (fig. 4). Analogous observations were made with rat serum and purified ceruloplasmin.

Potassium thiocyanate was used to stop the reaction since this compound is a potent inhibitor of ceruloplasmin (HOLMBERG & LAURELL, 1951). In the concentration used thiocyanate was a very efficient enzymatic inhibitor without interference with the red semiquinone product of the reaction.

The standard deviation of the method was performed with 10 determinations in the same human serum. The mean $\pm$ stand. dev. obtained was 214 ± 8.3 which corresponds to a variation coefficient of 3.9%.

Recovery experiments were made by mixing sera of different activities or by adding a dilute ceruloplasmin solution (2.2 mg of protein/1 ml) to the serum. Results of a typical experiment are given in Table II. Recuperations in the range of 97-106% were found.

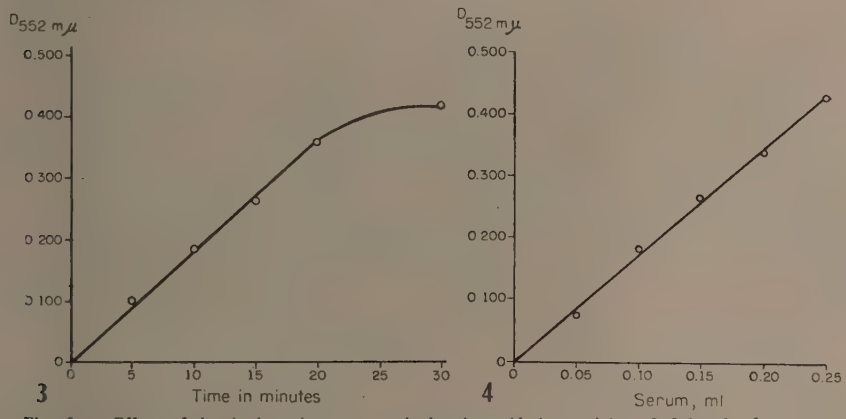


Fig. 3 — Effect of incubation time on ceruloplasmin oxidative activity of 0.1 ml of rat serum; fig. 4 — typical curve of ceruloplasmin activity obtained with variable amounts of human serum.

TABLE II

Recovery experiments with human sera

Mixtures	Ceruloplasmin units/100 ml		Recovery %
	calculated	found	
Serum A	—	160	—
Serum B	—	279	—
0.9 ml A + 0.1 ml B	172	176	102
0.8 ml A + 0.2 ml B	184	192	104
0.5 ml A + 0.5 ml B	220	215	97
0.2 ml A + 0.8 ml B	255	250	98
Serum C	—	225	—
CP*	—	744	—
0.9 ml C + 0.1 ml CP	277	295	106
0.8 ml C + 0.2 ml CP	329	349	106

* CP — Dilute ceruloplasmin solution (2.2 mg of protein/1.0 ml)

Normal values of ceruloplasmin oxidative activity in men, women, children and adult male rats are summarized in Table III. Ceruloplasmin activities of rat sera were found to be 2 times greater than that observed in sera of men and women. This difference was highly significant statistically ($t=8.952$, $P<0.001$ and $t=8.215$, $P<0.001$, respectively). The difference between the sera of children and that of rats was also significant ($t=5.150$, $P<0.001$).

Sera of children gave a somewhat higher activity than the sera of the adults but the difference was not statistically significant.

TABLE III

Normal values of ceruloplasmin oxidative activity in serum

Group	N.° of samples	Ceruloplasmin units/100 ml	
		range	mean ± stand. dev.*
Men	20	171 — 403	271 ± 56
Women	9	209 — 380	269 ± 55
Children	10	225 — 535	331 ± 93
Rats	20	380 — 853	536 ± 120

* Stand. dev. = standard deviation $(=\sqrt{\Sigma(x-\bar{x})^2/(n-1)}\ )$.

Determinations in normal pregnant women gave high ceruloplasmin levels in accordance with the findings of MARKOWITZ *et alii* (1955) using immunochemical and oxidase methods. The results of these estimations are summarized in Table IV. One case (R.R.A.), followed in the last trimester of pregnancy, clearly shows a progressive increase in ceruloplasmin activity.

We have observed, in agreement with others (MARKOWITZ *et alii*, 1955), low levels of ceruloplasmin in nephrotic syndrome. Two sera of children with lipoid nephrosis gave 116 and 160 units per 100 ml.

TABLE IV

Serum ceruloplasmin levels in pregnant women

Patient	Month of pregnancy	Ceruloplasmin units/100 ml
G. A.	4	450
M. R. B.	5	472
J. M. R.	6	620
R. R. A.	7	543
R. R. A.	8	628
R. R. A.	9	643

SUMMARY

A method is described for the determination of serum ceruloplasmin oxidative activity. Results are expressed in micromoles of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride oxidized in 15 minutes at 37°C in pH 6.0.

The reaction follows zero order kinetics and a lag period was not found. The influence of EDTA and ascorbic acid was studied. Values obtained in sera of men, women, pregnant women, healthy children, children with lipoid nephrosis, and normal Wistar rats, are reported and discussed.

SUMÁRIO

Um método de determinação da atividade oxidásica da ceruloplasmina sérica é descrito. Os resultados são expressos em micromols de dicloridrato de N,N-dimetil-p-fenilenodiamina oxidados em 15 minutos a 37°C em pH 6.0. A reação segue a cinética ordem zero. A influência do EDTA e do ácido ascórbico foi estudada. Os resultados obtidos nas determinações em sôros de homens, mulheres, mulheres grávidas, crianças normais, crianças com nefrose lipoídica, e ratos normais Wistar, são descritos e discutidos.

REFERENCES

Akerfeldt, S., 1957, Oxidation of N,N-dimethyl-p-phenylenediamine by serum from patients with mental disease. *Science,* 125: 117-119.

Albritton, E. C., 1952. *Standard values in blood*. W. B. Saunders Co., Philadelphia (cf. p. 109).

Broman, L., 1958, Separation and characterization of two coeruloplasmins from human serum. *Nature,* 182: 1655-1657.

Holmberg, C. G. & Laurell, C. B., 1948, Investigations in serum copper. II. Isolation of the copper containing protein, and a description of some of its properties. *Acta Chem. Scandinav.,* 2: 550-556.

Holmberg, C. G. & Laurell, C. B., 1951, Investigation in serum copper. III. Coeruloplasmin as an enzyme. *Acta Chem. Scandinav.,* 5: 476-480.

Houchin, O. B., 1958, A rapid colorimetric method for the quantitative determination of copper oxidase activity (ceruloplasmin). *Clin. Chem.,* 4: 519-523.

Humoller, F. L., Majka, F. A., Barak, A. J., Stevens, J. D. & Holthaus, J. M., 1958, Determination of plasma amine oxidase activity. *Clin. Chem.,* 4: 1-12.

Kety, S. S., 1959, Biochemical theories of schizophrenia. *Science,* 129: 1590-1596.

Markowitz, H., Gubler, C. J., Mahoney, J. P., Cartwright, G. E. & Wintrobe, M. M., 1955, Studies on copper metabolism. XIV. Copper, ceruloplasmin and oxidase activity in sera of normal human subjects, pregnant women, and patients with infection, hepatolenticular degeneration and the nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.,* 34: 1498-1508.

Ravin, H. A., 1956, Rapid test for hepatolenticular degeneration. *Lancet,* 1: 726-727.

Tong, L. K. J., 1954, Kinetics of deamination of oxidized N,N-disubstituted p-phenylenediamines. *J. Phys. Chem.,* 58: 1090-1097.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 105-111
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

NEW GENUS AND SPECIES OF BRAZILIAN TERMITE (Isoptera, Termitidae, Termitinae) [1]

R. L. ARAUJO
Instituto Biológico, São Paulo

(With 3 text-figures)

In the course of routine identification of termites of the collection of the Instituto Biológico, São Paulo, Brazil, a taxonomic problem arose which seems to deserve special attention. It concerns the generic and specific classification of two morphologically distinguishable termitinae soldiers which in diverse situations and in six out of seven instances, were found to associate with each other. According to the evidence here presented the two soldiers belong to one and the same species. The writer collected all the material with the exception of n.os 4.721 and 4.722 which were placed at his disposal by Professor C. R. Gonçalves and Father T. Borgmeier respectively. To these friends his indebtedness is here expressed. In order to provide the elements of the forthcoming discussion the list of the material with all the recorded information is given below.

MATERIAL EXAMINED

N.º 2.796, Tatuí, SP (23º 21' 03,1" S., 47º 50' 53,3" W), 5-II-1945. One major and one minor soldier (*paratypes*), ten workers, "around pineapple roots". Also numerous *Anoplotermes* sp. workers of two different sizes.

N.º 2.966, Juiz de Fora, MG (21º 46' S., 43º 21' W), VI-1946. Two major soldiers, one minor soldier (*paratypes*), several workers, immature ones, "from narrow galleries in a road side bank".

N.º 3.010, Campanha, MG (21º 50' 14" S., 45º 23' 58" W), 25-VI-1947. One major soldier, one minor soldier (*paratypes*), workers, immature ones; "colony or part of a colony in a roadside bank, within small chambers connected by narrow tunnels".

---

[1] Received for publication January 2, 1961.

N.º 3.255, São Paulo, SP (Morumbí) (23º 32' 35,1" S., 46º 38' 0,2" W), 31-X-1950. Six major soldiers (*holotype* and *paratypes*), seven minor soldiers (*holotype* and *paratypes*), two immature and five nymphs minor soldiers; numerous winged ones (*morphotypes* and *paratypes*); one soldier and numerous workers of *Armitermes heterotypus* Silv.

N.º 4.723, São Paulo, SP (Morumbí), 31-X-1950. One major soldier, two minor soldiers (*paratypes*), one woker; "from a nest of *Diversitermes* sp. (n.º 3.258)".

N.º 4.721, Km. 50, road from Curitiba to Rio Negro, PR. (Município de Lapa), 20-X-1954, C. R. Gonçalves coll. Two minor soldiers (*paratypes*). "Also four soldiers and nine workers of *Dentispicotermes* n. sp. (n.º 4.720)".

N.º 4.722, Itatiaia, RJ. (22º 25' S., 44º 50' W), 25-IX-1942, W. Zikán coll., T. Borgmeier leg. One major soldier, two minor soldiers (*paratypes*), male, female (*paratypes*) and workers.

DISCUSSION

The soldiers, major and minor, are Termitinae with asymmetrical snapping mandibles and a conspicuous frontal projection. They do not agree generically or specifically with any member of the subfamily. The snapping character of the mandibles is shared by all Neotropical Termitinae with the exception of *Spinitermes*. The asymmetry of the mandibles is possessed by *Cornicapritermes*, *Planicapritermes* and *Neocapritermes*, but the last two genera are devoid of a frontal projection, whereas *Cornicapritermes* which seems to be the closest genus, has a bilobed asymmetrical labrum. The frontal projection groups the soldiers here discussed with *Cavitermes*, *Spinitermes*, *Genuotermes* and *Termes* but, besides other differences, all these genera have symmetrical mandibles.

On the other hand, many differences were observed between the major and the minor soldiers. For instance, the mandibles of the major soldier are strongly asymmetrical and much stouter, corresponding to 61 percent of the length of the head, whereas the mandibles of the minor soldier are slightly asymmetrical, much slenderer and 10 percent longer than the head. They also differ from each other in several other conspicuous characters, none of which is, however, given generic or specific importance for reasons which shall be exposed later on.

The study of the material and data manifested the following facts:

a) The two soldiers were found associated with each other in six instances. In the case where only the minor soldiers were available (4.721) the fact is ascribed to defective collecting.

b) In six cases the soldiers came from localities hundreds of kilometers apart and in one case from 2 nests at the same locality and possibly only a few meters apart.

c) In two cases they were found in isolation (2.966, 3.010) and in four other cases (2.796, 3.255, 3.258, 4.721) they were found in company with different termites, always maintaining their own association. The collector did not report bionomic data for the Itatiaia (4.722) material.

d) They were found in company with *Anoplotermes* (2.796), *Armitermes* (3.255), *Diversitermes* (3.258) and *Dentispicotermes* (4.721).

e) The soldiers in six cases were found with workers and in two cases with workers and reproductives all belonging to the same species, as will be discussed later.

f) Material n.º 3.255, chosen as the basis for this discussion because of its completeness contains, along with major and minor soldiers and their nymphs, callow minor soldiers and workers, numerous winged individuals and workers, the mandibles of which show a remarkable similarity to those of *Crepititermes*. These imagoes, however, differ markedly from *C. verruculosus*, the type species of the genus, in many respects [2].

g) In materials 2.796, 2.966, 3.010, 3.258 and 4.722 workers are present which are specifically identical with the workers and imagoes found in n.º 3.255.

CONCLUSION

From a consideration of the foregoing points, the following deductions arise: a) an assembly of immature termite forms, with workers, reproductives and soldiers in the same nest, as represented in material n.º 3.255, seems to be indicative of a complete and individual colony; b) the presence of identical workers in five of the cases considered, and procured from places very distant from each other, seems to vouch their specific association to the major and minor soldiers. As stated before, the mandibles of these workers are only very slightly discrepant from those of *Crepititermes* with which they might have been confused. If we are correct, however, these small discrepancies have generic significance and, along with other characters, part them from *Capititermes*, the only genus our workers could be confused with on basis of mandibular characters.

From all these considerations we are led to conclude: 1) Material n.º 3.255 represents a complete colony; 2) The soldiers therein present, major and minor, are dimorphic forms of one and same species, and 3) They bespeak a *new*

---

[2] *Crepititermes* is a monotypic genus occuring in British Guiana and Trinidad, no records existing of its presence South of those areas. It seems to be restricted to the northernmost portions of the Brazilian Province of the Neotropical Region. It is not impossible that its presence be discovered in Southern Brazil, where the material discussed in this paper originates, but so far this has not been evidenced. *Crepititermes* soldiers have symmetrical mandibles and no frontal projection.

species of a *new genus,* this being also the opinion of Prof. Alfred E. Emerson, of the University of Chicago, with whom this problem was discussed and to whom our indebtedness is here expressed.

Dihoplotermes g. n.

Termitinae with soldiers of two forms (major and minor), with asymmetrical snapping mandibles; symmetrical labrum; a frontal conical projection; spine projecting forward on both lateral front angles of head above mandibular condyle. Tibial spurs 3-2-2; tibiae with a few scattered spines and a heavy one on outer aspect of middle tibia. Imago-worker mandibles (fig. 1) with apical tooth distinctly larger than first marginal; right mandible without indication of a second marginal; left mandible with conspicuous, if small, 3rd marginal, separated from fused 1st and 2nd by a small indentation.

Type species: *Dihoplotermes inusitatus* sp. n.

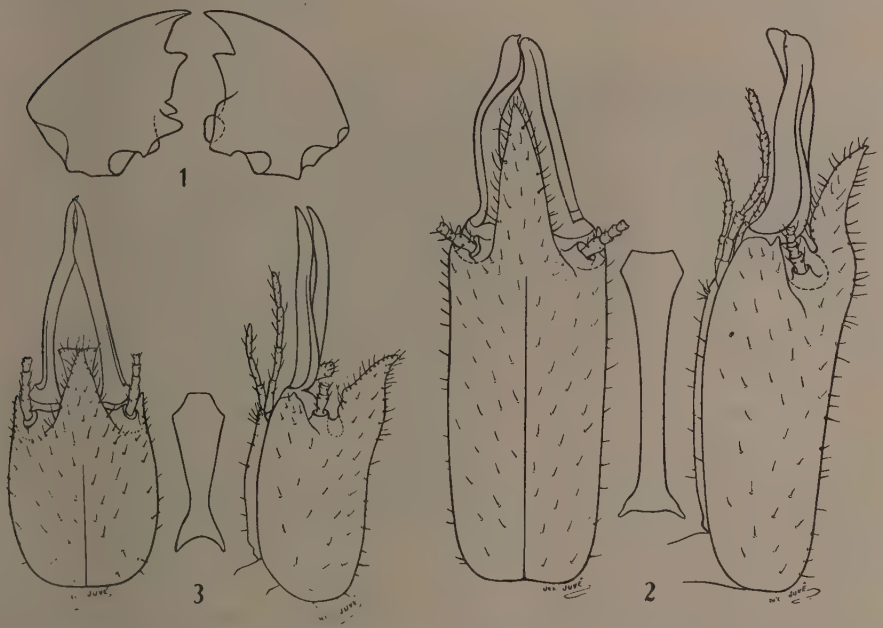
Genus closest to *Cornicapritermes* which has only one type soldier (two collections examined by Emerson [1950, *Amer. Mus. Novit.,* 1.444: 15] did not show evidence of a second soldier). The *Cornicapritermes* left imago-worker mandible has a proportionately smaller III marginal (in comparison with the basal tooth) and the right mandible has no indication of a II marginal.

Dihoplotermes inusitatus sp. n.

Major soldier (fig. 2): Head brownish yellow, tip of projection and mandibles brown; thorax and abdomen pale. Head with sparse hairs, denser on frontal projection; elongate, sides almost parallel, posterior angles rounded off, anterior ones bulge somewhat and have a small distinct spine pointing forward. Mandibles asymmetrical, robust, 61 percent of length of head; left one strongly sinuated, ending in a sharp point, its proximal outer aspect broadly excavated, the inner distal fourth bulging, furrowed; right one straigth, distally bent downwards, ending in a point, with a long furrow below. Labrum with distal portion cordiform in outline, the anterior margin indented. Postmentum elongate, thin, its sides almost parallel, widening rather abruptly to both ends. Antenna with 14 segments, the II, III and IV subequal. Frontal projection robust, pointed forward and extended about half way the length of mandibles; distal half upturned, tip acute; frontal gland opening below, on a small bump. Frontal lobe of pronotum darker than posterior one, upturned, front margin notched.

Minor soldier (fig. 3): Head brownish yellow; tip of projection darker, mandibles brown; thorax and abdomen pale. Head with many hairs, fewer on ventral aspect; sides nearly parallel, very slightly curved, posterior angles rounded off, anterior ones straight with a small, distinct spine pointing forward. Mandibles asymmetrical, slender, 10 percent longer than head, both slightly

bending down; left one sinuate, slightly longer than right one, blade-like except for a grooved expansion near tip which ends in a small point. Labrum with diverging sides, anterior margin bisinuate, with very short but sharp lateral point. Postmentum strongly constricted near base, sides diverging rather



Dihoplotermes inusitatus sp. n. — Fig. 1: Imago-worker mandibles; fig. 2: head (top and side views) and postmentum of major soldier; fig. 3: head (top and side views) and postmentum of minor soldier.

strongly, in profile more prominent than in major soldier. Antenna with 14 segments, the II, III and IV subequal. Frontal projection robust, pointing forward and upwards, reaching the basal third of the mandibles, frontal lobe of prothorax erect, indentate at tip, the anterior margin with a few long hairs directed backwards.

Both soldiers, major and minor, have the following common characteristics: 1) spine on front margin of latero-frontal angle of head above mandibular condyle; 2) labrum essentially similar and distinct from other genera; 3) pilosity, pronotum, color maxillary and labial palpi similar; 4) one heavy spine on outer part of middle tibiae, and 5) antenna similar in absolute size and proportion of joints.

The more striking differences are: mandibles more robust and more asymmetrical in major soldier, which has also a longer head and a postmentum long and thin.

Imago: Head dark brown, except clypeus, labrum, mouth parts, antennae, rather large muscle insertion areas in front of ocelli, which are much lighter.

TABLE 1

Measurements (in mm) of the soldiers of Dihoplotermes inusitatus sp. n.

	11 Major soldiers		14 Minor soldiers	
	Range	Mean	Range	Mean
Length of head to tip of projection	2.25 — 3.38	3.07	1.50 — 2.03	1.78
Length of head to base of mandibles	1.95 — 2.70	2.48	1.32 — 1.57	1.42
Length of head to tip spine	1.99 — 2.78	2.51	1.35 — 1.60	1.45
Thickness of head	1.05 — 1.13	1.08	0.83 — 0.90	0.85
Length of left mandible	1.35 — 1.73	1.61	1.50 — 1.65	1.61
Length of right mandible	1.43 — 1.80	1.63	1.50 — 1.61	1.57
Width of head	1.13 — 1.28	1.19	0.98 — 1.13	1.05
Length of postmentum	1.20 — 1.88	1.56	0.60 — 0.90	0.76
Widest width of postmentum	0.45 — 0.53	0.46	0.38 — 0.45	0.38
Narrowest width of postmentum	0.15 — 0.23	0.16	0.15 — 0.23	0.16
Length of pronotum	0.30 — 0.45	0.37	0.30 — 0.30	0.30
Width of pronotum	0.60 — 0.75	0.72	0.53 — 0.60	0.56
Width of mesonotum	0.60 — 0.83	0.68	0.53 — 0.68	0.60
Width of metanotum	0.68 — 0.83	0.74	0.60 — 0.75	0.70
Length of hind tibia	0.98 — 1.13	1.02	0.90 — 0.98	0.91

Pronotum lighter than head, sternites and legs still lighter. Wings hyaline, except for the darker costal margin. Head and pronotum rather densely pilose. Head with slight depression around fontanelle. Fontanelle elongate pyriform, very slightly longer than width of ocellus. Eye naked, slightly closer to lower margin of head than to ocellus. Ocellus nearly vertical, a little smaller in diameter than antennal socket. Postclypeus more than twice as wide as long (8:3). Mandibles as shown in fig. 1.

TABLE 2

Measurements (in mm) of 10 imagoes of Dihoplotermes inusitatus sp. n.

	Range	Mean
Length of head to tip of labrum	2.30 — 2.63	2.31
Length of head to side base of mandibles	0.83 — 0.90	0.85
Width of head	1.05 — 1.05	1.05
Diameter of eye	0.30 — 0.30	0.30
Eye from lower margin	0.08 — 0.08	0.08
Length of ocellus	0.11 — 0.11	0.11
Width of ocellus	0.07 — 0.07	0.07
Ocellus from eye	0.07 — 0.07	0.07
Ocellus from fontanelle	0.32 — 0.36	0.32
Length of fontanelle	0.08 — 0.08	0.08
Width of fontanelle	0.04 — 0.04	0.04
Length of pronotum	0.53 — 0.53	0.53
Width of pronotum	0.83 — 0.98	0.89
Length of hind tibia	1.13 — 1.28	1.18
Length of anterior wing from suture	7.07 — 7.64	7.41
Width of anterior wing	1.70 — 1.84	1.77

Antenna with 15 articles, I equal to II plus III; III, the smallest, about half II. Pronotum with front margin straight, elevated; lateral angles rounded, sides rounded and converging towards a straight hind margin; a depression on each side near front margin; two light spots on central line.

RESUMO

Novo gênero e nova espécie de térmita do Brasil

O novo gênero aqui descrito, *Dihoplotermes* (Genótipo: *G. inusitatus* sp. n.) distingue-se dos demais gêneros neotrópicos de Termitinae pelos seguintes caracteres: Mandíbula dos reprodutores e operários (fig. 1) com o dente apical distintamente maior que o primeiro marginal; mandíbula direita sem vestígio do segundo marginal; mandíbula esquerda com um terceiro marginal, pequeno, mas conspícuo e separado do 1.º + 2.º, por pequeno entalhe. Soldados dimórficos, *major* e *minor* (figs. 2, 3), com mandíbulas retorcidas, assimétricas; labro simétrico; projeção frontal cônica, conspícua; espinho dirigido para a frente no ângulo ântero-lateral da cabeça, acima do côndilo mandibular.

A observação do material evidenciou o fato dos soldados *major* e *minor* acharem-se sempre associados; em seis casos estavam em companhia de operários e em dois casos com operários e reprodutores; o material n.º 3.255, tomado como base para o estudo por ser o mais completo, contém ao lado dos soldados *major* e *minor* e suas ninfas, soldados *minor* e operários imaturos, numerosos alados e operários; as demais amostras contêm operários especìficamente idênticos aos operários e reprodutores do n.º 3.255. Concluiu-se que essa amostra representa uma colônia completa e que a presença de operários em cinco amostras provenientes tanto de lugares muito afastados, como próximos, parece garantir sua associação específica com os soldados. Concluiu-se que êsses soldados são formas dimórficas da mesma espécie.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1): 113-116
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

AÇÃO DO ÁCIDO SULFÚRICO SÔBRE O CRESCIMENTO DAS RAÍZES NOS "SEEDLINGS" DO ALGODÃO MOCÓ "GOSSYPIUM HIRSUTUM MARIE-GALANTE" HUTCH.[1]

J. JÚLIO DA PONTE
Escola de Agronomia, Fortaleza, Ceará

Da possibilidade de transmissão de agentes patogênicos pelas sementes, decorre a importância da desinfecção dêsses órgãos, como medida de contrôle das moléstias parasitárias das plantas de interêsse econômico.

A literatura sôbre a desinfeção química das sementes do algodoeiro refere-se, com vantagens, à utilização do ácido sulfúrico como agente desinfetante, tanto pela ação germicida, como pela inocuidade do tratamento às sementes (MacDonald *et al.*, 1947; Kispatic, Lusin & Klindic, 1952; Gavrielit-Gelmund, 1956).

Ponte (1960) constatou a inexistência de qualquer prejuízo ao poder germinativo das sementes do algodão mocó, *Gossypium hirsutum marie-galante* Hutch., com o tratamento pelo ácido sulfúrico concentrado (densidade 1,84), ainda que por prolongado tempo de imersão. No mesmo trabalho o autor faz referência a um aumento considerável da percentagem de germinação, observado para sementes prèviamente submetidas a 50 minutos de exposição ao ácido referido.

É do nosso interêsse saber se esta influência positiva, manifestada sôbre a germinação, estende-se ao desenvolvimento dos "seedlings". No presente trabalho, conduzido em condições de laboratório, estudamos a ação do ácido sulfúrico concentrado (densidade 1,84) sôbre o crescimento das raízes nos "seedlings" do algodão mocó, *Gossypium hirsutum marie-galante* Hutch.

MATERIAL E MÉTODO

Utilizamos sementes do algodão mocó, linhagem 9193, da safra de 1958, procedentes da Estação Experimental de Seridó (Cruzeta, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil).

[1] Recebido para publicação a 27 de janeiro de 1961.

A desinfeção foi procedida pelo ácido sulfúrico concentrado (densidade 1,84), tomando-se a proporção de duas partes de sementes para uma do ácido.

O experimento constou de 3 tratamentos, indicados pelas letras A, B e C e caracterizados por diferentes tempos de imersão das sementes na solução desinfetante — zero, 25 e 50 minutos, respectivamente.

Em seguida à desinfeção, tôdas as sementes, inclusive as do grupo contrôle, passaram por uma lavagem em água corrente, durante 5 minutos. Logo após, foram distribuídas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forradas com 3 fôlhas de papel de filtro S & S e umedecidas com 10 mililitros de água destilada. As placas, dispostas em delineamento inteiramente casual, foram mantidas em câmara úmida e em regime de semi-obscuridade. A temperatura do laboratório, no decurso do experimento, variou entre 26°-29°C, extremos incluídos. Procedemos, 72 horas após a distribuição das sementes, a mensuração das raízes axiais.

A Tabela I expõe as médias dos comprimentos apresentados pelas raízes em cada placa, cujos valores foram considerados para efeito de análise estatística do experimento.

TABELA I

Médias (cm) dos comprimentos apresentados pelas raízes axiais nas placas de Petri e referidas aos diversos tratamentos, caracterizados por diferentes tempos de exposição de sementes do algodão mocó, Gossypium hirsutum marie-galante Hutch., ao ácido sulfúrico concentrado (densidade 1,84)

Tratamentos	Placas					Totais	Médias
	1	2	3	4	5		
A.....	1,45	1,10	1,70	1,39	1,56	7,20	1,44
B.....	2,19	1,94	2,66	2,38	2,98	12,15	2,43
C.....	2,31	2,34	2,56	2,01	3,04	12,26	2,45

TABELA II

Análise da variância das médias (cm) dos comprimentos apresentados pelas raízes axiais nas repetições (placas de Petri) dos diversos tratamentos, caracterizado por diferentes tempos de exposição de sementes do algodão mocó, Gossypium hirsutum marie-galante Hutch., ao ácido sulfúrico concentrado (densidade 1,84)

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Entre tratamentos.....	2	3,34	1,67	13,92**
Dentro tratamentos.....	12	1,44	0,12	
Total.....	14	4,78	—	—

C.V. = 16,58%

TABELA III

Contrastes formulados entre as médias (cm) dos diversos tratamentos, caracterizados por diferentes tempos de exposição de sementes do algodão mocó, Gossypium hirsutum marie-galante **Hutch., ao ácido sulfúrico concentrado (densidade 1,84). Apreciação pelo teste de Tukey: D=0,79, para o nível de 1% de probabilidade**

Tratamentos	Médias $\bar{x}$	$\bar{x} - \bar{x}_A$	$\bar{x} - \bar{x}_B$
C.....	2,45	1,01**	0,02
B.....	2,43	0,99**	—
A.....	1,44	—	—

Empregamos 20 sementes por placa de Petri e 5 repetições para cada *tratamento*.

A análise da variância revelou um F significativo ao nível de 1% de probabilidade (Tabela II). Os contrastes formulados foram interpretados pelo teste de Tukey (Tabela III).

CONCLUSÕES

a) A desinfecção das sementes pelo ácido sulfúrico concentrado, seja por imersão de 25 ou 50 minutos, não acarretou nenhum efeito inibidor com respeito ao crescimento das raízes nos "seedlings" do algodão mocó.

b) As diferenças estatìsticamente significativas, ao nível de 1% de probabilidade, que separam os grupos de sementes tratadas do grupo de contrôle, evidenciam uma ação estimulante da desinfeção pelo ácido sulfúrico sôbre o crescimento das raízes nos "seedlings" do algodão mocó.

SUMMARY

This paper reports an experiment carried out in laboratory conditions, in which the author observed the action of concentrated sulphuric acid (density 1,84) on the growth of the seedlings' roots of the "mocó" cotton *Gossypium hirsutum marie-galante* Hutch.

The experiment consisted of three treatments characterized by different exposure times of the seeds to the acid — zero, twenty-five and fifty minutes.

The analysis of variance showed a F significative at the one per cent probability level. The desinfection of seeds by sulphuric acid did not have inhibitor effect on the growth of the roots. The lots of treated seeds differed statistically from the control. Thus it shows a stimulating action of the desinfection by sulphuric acid on the growth of the seedlings' roots.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GAVRIELIT-GELMUND, H., 1956, Effect of sulphuric acid upon germination of cotton seeds. *Has Sadeh*, 36: 620-622.

MACDONALD, D. *et alii*, 1947, Experimental methods with cotton; sulphuric acid treatment of cotton seeds; and its effects on germination, development and gelc. *J. Agric. Sci.*, 37: 291-296.

KISPATIC, J., LUSIN, V. & KLINDIG, O., 1952, The treatment of cotton-seeds with formaline and sulphuric-acid. *Zastita Bilja*, 10: 3-8.

PONTE, J. J., 1960, Influência do ácido sulfúrico concentrado (densidade 1,84) sôbre a germinação das sementes do algodão mocó, *Gossypium hirsutum marie-galante* Hutch. *Bol. Soc. Cear. Agron., Fortaleza*, 1: 67-72.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) 117-120
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

"STENOLEMUS WYGODZINSKYI" SP. N. (Hemiptera, Reduviidae) [1]

H. N. ESPÍNOLA, S. H. XAVIER e S. S. MATTOS
Instituto Nacional de Endemias Rurais, Belo Horizonte, Minas Gerais

(Com 5 figuras no texto)

Entre o material procedente de inquéritos entomológicos realizados no Estado de Minas Gerais, recebemos um exemplar de *Stenolemus* que verificamos pertencer a uma nova espécie para a qual propomos o nome *S. wygodzinskyi* em homenagem ao emérito entomologista Dr. Petr Wygodzinsky, que há muitos anos vem se dedicando ao estudo dêste grupo.

Fêmea — Comprimento total incluindo os hemélitros 9,6 mm, até o ápice do abdômen 8 mm. Colorido geral castanho com elementos de coloração branca.

Cabeça mais longa do que larga (incluindo os olhos), com 1,2 mm de comprimento e 1 mm de largura; distância interocular vista de cima ligeiramente maior que a largura de um ôlho; visto de perfil, o ôlho atinge a face inferior da cabeça, não atingindo a superior (fig. 3). Lobo posterior da cabeça com 1+1 tubérculos arredondados bem distintos e olhos bem desenvolvidos. Rostro com os 2 segmentos basais grossos e o 3.º delicado; base do 1.º artículo, metade basal do 2.º e ápice do 3.º de coloração castanha; tylus e tubérculos anteníferos branco amarelados; lobo posterior da cabeça castanho escuro com um triângulo claro cuja base repousa na sutura interocular. Antenas relativamente longas e pilosas com o seguinte índice: 1:0,73: 0,17: 0,33. O 1.º segmento suporta numerosos pêlos longos (cêrca de 3 vêzes o diâmetro transversal do segmento) com 3 anéis castanhos e largos; 2.º artículo com pilosidade menor que o anterior e com 4 anéis da mesma côr, estando a base incluída num dêstes; 3.º e 4.º segmentos com pilosidade muito curta e inteiramente escuros.

Pronoto totalmente revestido de pêlos longos e curtos, distintamente pedunculado, sendo o pedúnculo do mesmo comprimento do lobo anterior. Saliências laterais e submedianas do lobo posterior do pronoto espiniformes, sendo

[1] Recebido para publicação a 17 de fevereiro de 1961.
O autor senior é Bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

as submedianas ligeiramente mais agudas do que as laterais. Margem posterior côncava; lobo posterior com uma mancha esbranquiçada que se estende pela margem; medianamente há uma faixa também branca que se continua mais larga no pedúnculo, dividindo-se em 3 ramos ao atingir o lobo anterior. Seguindo o ramo mediano, até a margem anterior, bifurca-se ao longo da mesma; entre os três ramos há também 1+1 pequenas manchas longitudinais que se dirigem obliquamente para os lados.

Meso e metanoto prolongados em espinhos longos, delgados, revestidos de pêlos, dirigidos para cima e ligeiramente inclinados para trás, sendo o ápice do espinho do mesonoto dirigido para frente. Ambos os prolongamentos apresentam-se com a base de côr pícea e com as extremidades claras .

Patas anteriores fortes e densamente pilosas; tíbias com cêrca de 3/5 do comprimento do fêmur; êste apresentando 3 processos espiniformes mais desenvolvidos; aparecem na face ventral, além dêstes, cêrca de 60 espinhos fortemente esclerosados dispostos em 2 fileiras (fig. 2). Tíbias anteriores ventralmente com 27 espinhos também fortemente esclerosados e dispostos em 2 fileiras. Coloração no fêmur anterior composta de 4 anéis castanhos claros, bem como o ápice do segmento; tíbias com 5 anéis da mesma côr.

Patas médias com 5 anéis castanhos nos fêmures, mais largos do que os anéis claros; tíbias com 2 anéis escuros assim como os 75% apicais.

Patas posteriores com 5 anéis castanhos escuros nos fêmures, bem como as extremidades basal e apical; tíbias com 3 anéis mais estreitos que as marcações claras e os 70% apicais castanho claro. Nas patas médias e posteriores os pêlos tomam a côr de onde se inserem.

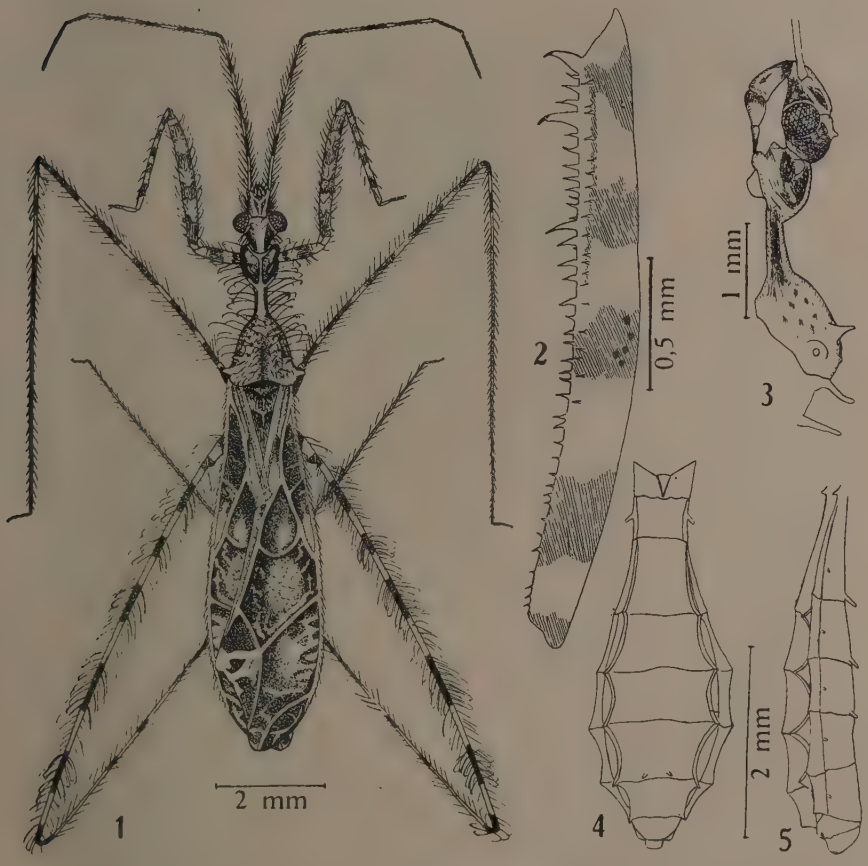
Abdômen alongado, subelítico, com bordos laterais ondulados; tergitos VI com 1+1 processos submedianos (fig. 4); esternitos abdominais III-IV e V com 1+1 processos submedianos delgados; estígmas inseridos em saliências curtas (fig. 5). Tergitos e esternitos castanho escuro; conexivo dorsalmente branco, ventralmente com manchas brancas na metade anterior de cada segmento e castanho escuro na posterior.

Hemélitros de colorido castanho com nervuras brancas, ultrapassando bastante a extremidade do abdômen; células discal e basal com u'a mancha amarelo ferruginosa no centro; nervura transversal que parte da nervura da célula discal basal aproximando-se mais da extremidade basal que da apical; célula distal não dividida por nervura longitudinal; margem posterior interna bastante côncava como se pode apreciar na fig. 1.

Localidade — Engenheiro Dolabella, Município de Bocaiúva, Estado de Minas Gerais, Brasil, 14-5-1960, S. H. Xavier e S. S. Mattos col. (holótipo, Museu Entomológico do I.N.E.Ru. n.º 929.)

Discussão — A espécie descrita difere de *S. perplexus* pelo comprimento do pedúnculo que é mais longo do que o lobo anterior do protórax; pelas saliên-

cias do lobo posterior que se apresentam muito curtas, em forma de cones; esta espécie apresenta fêmures anteriores com apenas 2 processos basais maiores, sendo o basal mais forte e maior que o 2.º. Não apresenta mancha amebóide amarelada na célula discal basal.



Stenolemus wygodzinskyi sp. n. — Fig. 1: Holótipo fêmea (Espinola del.); fig. 2: fêmur anterior; fig. 3: cabeça e pronoto, aspecto lateral; fig. 4: abdômen, vista dorsal; fig. 5: abdômen, vista lateral.

Do *S. decarloi* difere pelas dimensões da cabeça, pois nesta espécie o comprimento é igual a largura; pela distância interocular que é 2 vêzes o diâmetro de um ôlho; de perfil os olhos desta espécie não atingem nem a face dorsal nem ventral da cabeça Pedúnculo ligeiramente mais curto que o lobo anterior do pronoto. O fêmur anterior tem 4-5 processos espiniformes maiores. Margem posterior interna do hemélitro pouco convexa, quase reta; tergitos sem processos submedianos.

Do *S. sailleri* difere pela cabeça, cuja largura é também igual ao comprimento, pelas antenas, onde os pêlos são pouco numerosos nos 1.º e 2.º artículos e cujo comprimento pouco ultrapassa ao diâmetro dos referidos artículos; pela relação da distância interocular com o diâmetro de um ôlho, que é de 3:2. Artículos das pernas anteriores de côr geral esbranquiçada, com manchas de colorido castanho escuro não formando anéis definidos. Fêmur anterior apresentando apenas 2 processos maiores, sendo o basal mais forte que o outro e muito inclinado para a base. Célula discal basal com diâmetro transversal igual ao diâmetro longitudinal, enquanto que na espécie descrita êste é maior do que aquêle.

SUMMARY

The authors describe a new species of the genus *Stenolemus* Signoret, 1858 named *S. wygodzinskyi* and collected in Engenheiro Dolabela, Bocaiuva, State of Minas Gerais, Brazil, by S. H. Xavier and S. S. Mattos, may 14, 1960.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

McAtee, W. L. & Malloch, J. R., 1925, Revision of the American bugs of the Reduviid subfamily Ploiariinae. *Proc. U. S. Nat. Mus.*, 67 (1): 135 pp., 9 pls.

Wygodzinsky, P., 1943, Contribuição ao conhecimento do gênero *Stenolemus* Signoret, 1858 (Ploiarinae, Reduviidae, Hemíptera). *Rev. Brasil. Biol.*, 3 (4): 443-451, 25 figs.

Wygodzinsky, P., 1945, Notas e descrições de Emesinae Neotropicais (Reduviidae, Hemiptera) *Rev. Brasil. Biol.*, 5 (2): 247-262, 50 figs.

Wygodzinsky, P., 1946, Sôbre duas novas espécies de Emesinae do Brasil, com notas sôbre *Stenolemoides arizonensis* (Banks) (Reduviidae, Hemiptera). *Rev. Brasil. Biol.*, 6 (4): 509-519, 56 figs.

Wygodzinsky, P., 1953, Apuntes sôbre Emesinae americanas (Reduviidae. Hemiptera). *Acta Zool. Lilloana*, 14: 281-315.

Wygodzinsky, P. & Abalos, J. W., 1950, Sobre algunos *Stenolemus* americanos (Emesinae, Reduviidae, Hemíptera). *Anal. Inst. Med. Reg.*, Tucuman, 3 (1): 99-110, 20 figs.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 121-126
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

TRÊS REPRESENTANTES NOVOS DE EBURIINI (Col., Cerambycidae, Cerambycinae) [1]

DMYTRO ZAJCIW
Rio de Janeiro, Guanabara

(Com 3 figuras no texto)

Apresentamos duas espécies novas do gênero *Eburia* Serville, 1834, que se distinguem da maior parte das espécies conhecidas pelo seu tamanho menor e pelo porte geral bem esbelto, lembrando à primeira vista alguma espécie pequena de *Eburodacrys* Thomson, 1860. Além disso descrevemos o novo gênero *Tumiditarsus,* interessante por suas antenas 12-articuladas e tarsos intermédios e posteriores inchados.

Eburia angusticollis sp. n.
(Fig. 1)

♀?. Ferruginea, flavo-pilosa, mandibulis apice infuscatis; antennae corpore 1 1/3 longiores, infra longe disperseque pilosae, scapo curto, paululum obconico, nitido, sparsim punctato, supra haud distincte sulcato; prothorax latitudine 1 1/3 longior, utrinque post medium spinosus, apicem versus parum attenuatus, basi constrictus, supra ante medium obsolete bicallosus, vitta mediana brevi nitida ornatus, tuberculis lateralibus callisque omnibus concoloribus, disco supra leviter punctatus et undulato-striatus; elytra apice truncata, angulo exteriore spinoso, basi ocellato fortius, apicem versus leviter punctata, marginibus apicibusque pilis brevibus indutis, dorso maculis tribus eburneis disjunctis haud fusco limbatis ornato. corpus infra pedesque flavo hirsuta.

♀?. Ferrugínea, mandíbulas escurecidas nos ápices. Palpos maxilares um pouco mais longos que os labiais, com os últimos artículos alongados, truncados nos ápices, os primeiros obliquamente, os segundos retamente; mandíbulas curvadas nos ápices; fronte transversal; genas curtas e agudas nos ápices; vértice rugoso-pontuado. Antenas cêrca de 1 1/3 vêzes o comprimento do corpo, com os primeiros 7 artículos raramente ciliados, os restantes pubescentes, só com

[1] Recebido para publicação a 2 de março de 1961.
Com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas.

várias cerdinhas compridas; escapo ligeiramente obcônico, sub-brilhante, esparsamente pontuado, parece que com vestígio de um sulco basal na sua face superior; o 3.º artículo mais longo que o 4.º, um e outro cilíndricos, sem sulcos longitudinais; o último artículo um pouco mais longo que o penúltimo, subreto e cilíndrico.

Protórax 1 1/3 vêzes mais longo que largo na base, subcilíndrico, com pequenos espinhos laterais, colocados logo depois do meio, sem tubérculos antes dêles; a parte anterior, desde os espinhos laterais, gradualmente estreitada para frente, a parte posterior com uma constrição bem marcada; disco com pontos dispersos e rugas transversais onduladas, subobsoletas, ornado com duas elevações anteriores muito reduzidas e com uma linha mediana curta entre elas; espinhos laterais e tôdas as elevações no disco não escurecidos; prosterno, na parte anterior, transversalmente plicado, na parte basal com vários pontos grossos; mesonoto com uma área mediana, subtransversal e sub-brilhante, e com duas áreas nos lados da primeira, finìssimamente pontuadas e opacas. Escutelo curto, arredondado no ápice, com vários pontos e pêlos.

Élitros cêrca de 3 1/2 vêzes o comprimento do protórax, alongados, subparalelos, retamente truncados nos ápices, cada um com um espinho externo e ângulo sutural reto; os primeiros 2/3 do disco com pontos moderados ocelados, que ocupam a superfície inteira, desde as margens até a sutura; o último 1/3 dos élitros sub-brilhante; o meio do disco glabro, as margens e os ápices com pêlos curtos, subdecumbentes, além disso, são aparentes algumas séries longitudinais de pêlos longos e eretos; cada élitro é ornado com 3 manchas ebúrneas, bem estreitas, as quais, entretanto, não apresentam as linhas: uma basal, com os lados sub-paralelos, acuminada no ápice, a segunda média, em continuação da primeira, mais curta e mais elítica que ela, e a terceira, pós-média, fusiforme e mais curta que a segunda, situando-se mais para fora que a média, e recuada para trás desde a média, na metade do seu comprimento; processo prosternal estreito, levemente dilatado e curvado para trás, com uma quilha mediana longitudinal entre as coxas; processo mesosternal mais largo, em declive para a frente, emarginado na borda posterior.

Pernas anteriores curtas, com os fêmures engrossados no meio; as médias e as posteriores mais longas, com fêmures gradualmente alargados para o ápice, mais estreitos que os anteriores, munidos de espinhos internos longos e de dentinhos externos muito curtos; os fêmures posteriores não atingem os ápices dos élitros; todos os tarsos dilatados, os posteriores com o 1.º artículo mais curto que o 2.º e o 3.º em conjunto. Metasterno, no meio, grossa e esparsamente pontuado, os pontos nos lados se tornam menores, depois desaparecem completamente, deixando os lados e os episternos só chagrinados e finamente pubescentes; abdômen brilhante, com pontos muito dispersos. A face inferior do corpo, incluindo as pernas, com pêlos amarelos longos, eretos e esparsos.

Comprimento do corpo 10,5 mm.

Outro sexo (♂ ?) desconhecido.

Fig. 1 — *Eburia angusticollis* sp. n.; fig. 2 — *Eburia decorata* sp. n.

Localidade típica: Brasil, Rio de Janeiro, Floresta da Tijuca, 5-II-59, na luz (Seabra leg.).-1 ex.

Holótipo na coleção Campos Seabra (Rio de Janeiro).

Eburia decora sp. n.
(Fig. 2)

♀? *E. angusticolli* Zajciw proxime affinis et similis, differt scapo, thoracis tuberculis dorsalibus, femoribus mediis et posticis apicis spinisque nigris; scapus regulariter obconicus; prothorax latitudine 1 1/5 longior, apicem versus haud attenuatus, basi haud constrictus, supra ante medium sat bituberculatus, disco supra irregulariter rugoso-punctatus, haud undulato striatus; elytra haud ocellato punctata, dorso utrinque maculis tribus eburneis, una basali, alteris duabus geminatis (interiora paulum minore) fusco limbatis ponc medium ornata.

♀? Próxima de *E. angusticollis* Zajciw, tendo os caracteres, abaixo assinalados, diferentes.

Ferrugínea; mandíbulas nos ápices, escapo, dois tubérculos discais no protórax, fêmures intermédios e posteriores e espinhos relativos escurecidos.

Palpos subiguais, com os últimos artículos alongado-triangulares, truncados nos ápices: os maxilares obliquamente, os labiais retamente; mandíbulas curvadas desde a base. Antenas cêrca de 1 1/6 vêzes o comprimento do corpo, com os primeiros 6 (7) artículos raramente ciliados; escapo esbelto, regularmente obcônico, irregularmente pontuado, sem vestígio do sulco basal na face superior.

Protórax 1 1/5 vêzes mais longo que largo na base, regularmente cilíndrico, não estreitado para a frente, a parte posterior sem constrição bem marcada; disco com rugas e pontos transversalmente não estriado, ornado com dois tubérculos pretos bem desenvolvidos.

Elitros cêrca de 4 vêzes o comprimento do protórax, com pontos não ocelados; cada um é ornado com 3 manchas ebúrneas, distribuídas de maneira idêntica à encontrada em *Pronuba decora* Thoms.: uma basal fusiforme e duas pós-médias, geminadas; estas últimas são um pouco mais longas que a basal, completamente paralelas, só a interna na parte posterior é apenas mais curta que a externa. Mancha anterior com ponto escurecido na sua parte posterior, manchas pós-médias limbadas com prêto.

Processo prosternal, apesar de ser estreito, é um pouco mais largo que em *angusticollis*, sem uma quilha mediana, mas com bordas nos lados; metasterno sem pontos grossos. Fêmures anteriores um pouco mais grossos que os restantes, mas não são tão dilatado-alargados como em *angusticollis;* fêmures intermédios e posteriores mais esbeltos.

Comprimento do corpo 12 mm.

Outro sexo (♂?) desconhecido.

Localidade típica: Brasil, Goiás. — 1 ex.

Holótipo ex. col. Zellibor, agora na coleção Campos Seabra.

Tumiditarsus g. n.

Caput breve, palpis subaequalibus, fronte fere verticali, oculis magnis, grosse granulatis, sat profunde incisis, genis brevibus, angulo inferno acuminato, tuberibus antenniferis dentato-productis, vertice plano; antennae corpore longiores, 12-articulatae, setis longis sparsim fimbriatae, scapo subcylindrico, leviter curvato, articulis 3° — 6° haud sulcatis, artículo 3° scapo breviore, apice cicatricoso et dentato-producto, articulo 4° praecedente fere duplo longiore; prothorax latitudine perparum brevior, antice posticeque attenuatus, base constrictus, lateraliter spina parva acuta ante medium utrinque armatus, supra paulo depressus; elytra parallela, apice truncata haud spinosa, lineolis eburneis subelevatis ornata; prosterni processus modice angustus, mesosterni processus latior, trapeziformis, postice incisus; femora intermedia et postica haud spinosa; tibiae intermediae et posticae apice haud clavatae; tarsorum intermediorum et posticorum art. 1^{us} et 2^{us} valde tumidi.

Palpos subiguais; fronte quase vertical; olhos grossamente granulados, grandes, recortados na sua parte superior; genas muito curtas, salientes nos ápices; vértice achatado entre os olhos, mais convexo na parte posterior; antenas mais longas que o corpo, 12-articuladas, na face inferior com pêlos pálidos longos, não densos, artículos não sulcados; escapo subcilíndrico, arqueado, 3.° art. cicatricoso e dentado no ápice; 4.° art. mais longo que o 3.° e que o 5.°; escutelo subtriangular, com os lados curvados e o ápice agudo; protórax mais largo que longo, os lados nos seus 2/3 com espinhos pequenos e agudos; disco subachatado, com uma ligeira constrição na base; élitros paralelos, retamente truncados nos ápices, não espinhosos, convexos, com linhas ebúrneas; processo prosternal

moderadamente estreitado, processo mesosternal trapezoidal, emarginado na borda posterior; fêmures subclavados, sem espinhos nos ápices; tíbias não clavadas nos ápices, tarsos intermédios e posteriores com o 1.º e o 2.º artículos muito inchados — Tipo genérico: *Tumiditarsus cicatricornis* sp. n.

Fig. 3 — *Tumiditarsus cicatricornis* sp. n.

À primeira vista lembra *Cupanoscelis* Goun., de que se distingue fàcilmente pelo 3.º artículo antenal cicatricoso e dentado no ápice, pelo 4.º art. duas vêzes mais longo que o 3.º e bem mais longo que o 5.º, pelos art. 3.º-6.º não sulcados, pelos élitros truncados e não espinhosos nos ápices, pelos fêmures intermédios e posteriores não espinhosos, pelas tíbias intermédias e posteriores não clavadas nos ápices, etc.

Tumiditarsus cicatricornis sp. n.
(Fig. 3)

♂ ♀. Brunneo-rufus, subopacus; prothorace, elytris secundum suturam et margines externos testaceis; corpore setis griseo-fulvis rectis ornato.-Palporum articulo ultimo subcylindrico, elongato; fronte subtiliter punctata, genis nitidis; antennae articulo 8º apicem elytrorum attingentes, scapo modice punctato, ultimo articulo penultimo breviore; prothorax dense reticulato-punctatus; scutellum crebre punctatum, pilis pallidis haud dense hirsutum; elytra thorace 3 1/2 longiora, disco grosse rugoso-punctato, pilis decumbentibus brevibus modice induto, tribus lineolis eburneis singulatim ornato: una basali, duabus submedianis parallelis; femora postica abdominis segmentum tertium fere attingentia; metasternum abdomenque crebre punctata, setis pallidis decumbentibus haud dense hirtis.

♂? Castanho-rufo, subopaco; protórax e a maior parte dos élitros escurecidos; linha ao longo da sutura e uma outra ao longo da margem externa testáceas; corpo todo coberto de setas gríseo-amareladas, eretas e não densas.

Palpos com o último artículo subcilíndrico, alongado; fronte finamente pontuada, com linha mediana longitudinal impressa e lisa; genas brilhantes; vértice densamente enrugado-pontuado. Antenas ultrapassam o corpo com seus 4 últimos artículos; escapo grossa e não muito densamente pontuado; 2.º art. quadrado; 3.º art. mais curto que o escapo, engrossado para o ápice, aqui nítido e brilhante, com uma cicatriz e um dente interno; 4.º art. cêrca de duas vêzes mais longo que o 3.º e distintamente mais longo que o 5.º; 5.º-10.º artículos subiguais; 4.º-5.º art. subnodosos nos ápices; o último artículo mais curto que o penúltimo.

Protórax com 2/3 estreitados para a frente e 1/3 estreitado para trás, densamente reticulado-pontuado, com vestígios de duas elevações na parte anterior do disco, com pêlos gríseos decumbentes e eretos; escutelo grossamente pontuado, com alguns pêlos gríseos. Élitros quase 3 1/2 vêzes mais longos que o protórax; disco grossa e densamente rugoso-pontuado, cada um com vestígios das duas carenas e com três linhas ebúrneas curtas, pouco aparentes, colocadas do seguinte modo: uma na base da carena interna, a 2.ª e a 3.ª depois do meio, paralelamente em ambas as carenas; a superfície coberta de pêlos muito curtos, gríseos, decumbentes, que se tornam mais longos e mais eretos na parte apical dos élitros. Fêmures posteriores quase atingem o ápice do 3.º segmento abdominal; tíbias intermédias e posteriores só levemente alargado-nodosas nos ápices; o 1.º art. dos tarsos anteriores, em comparação com o 2.º, só um pouco inchado; o 1.º artículo dos tarsos intermédios e posteriores do comprimento da 1/2 da tíbia respectiva, muito inchado, finamente pontuado, brilhante, com vários pêlos pálidos; o 2.º art. dos mesmos tarsos mais curto que o 1.º, inchado da mesma maneira, subarredondado; ambos os artículos inchados são achatados na face inferior, cada um com uma linha mediana elevada; o 3.º art. na face inferior completamente plano, sem elevação mediana; mesosterno e abdômen densamente pontuados, com revestimento de pêlos pálidos decumbentes, não densos. Comprimento do corpo 10,5 mm.

Outro sexo (♀?) desconhecido

Localidade típica: Argentina, Formosa. — 2 exs.

Um holótipo e um parátipo, XI.1950 (J. B. Daguerre, leg.) da ex col. Bosq., agora na coleção Campos Seabra.

Rev. Brasil. Biol., 21 (1) : 127-130
Junho, 1961 — Rio de Janeiro, GB

CRÍTICA BIBLIOGRÁFICA

PESSÔA, S. B., 1960, ENSAIOS MÉDICO-SOCIAIS.
296 pp., 27 figs., Liv. Edit. Guanabara, Rio de Janeiro.

"Ensáios Médico-Sociais" reúne conferências e artigos do Prof. Samuel Barnsley Pessôa e consta de 20 capítulos grupados em 3 partes: Introdução ao Estudo da Geografia Médica; Educação Médica; e Saúde Pública .

Cultivada desde a Antigüidade Clássica, a Geografia Médica entrou em colápso com a difusão das idéias pasteurianas. Correlações entre o meio geográfico e a ocorrência de doenças, quando registradas, caíam no olvido. Observações importantes como a de Oswaldo Cruz, no Rio Madeira, mostrando existir correlação entre a prevalência da malária e a altura das margens, em cada trecho do rio, nunca foram tomadas em consideração. De uns 20 anos para cá, entretanto, problemas novos surgidos quando se realizavam operações militares em áreas pouco estudadas e, também, algumas dificuldades encontradas na colonização de terras virgens, trouxeram o assunto para a ordem do dia. Ao mesmo tempo em que diversas instituições passaram a editar atlas nosológicos, alguns pesquisadores começaram a ensaiar novos métodos de trabalho para o estudo da dispersão das moléstias. Dos resultados dêsses esforços, destacam-se a "Ecologia da Doença" de May, os "Complexos Patogênicos" de Sorre e os "Nichos de Doenças" de Pavlowsky, como formas de aproximação a uma nova Geografia Médica.

"Introdução à Geografia Médica", curso dado na Universidade de Minas Gerais, resume a evolução dessa ciência.

Em "Educação Médica" são debatidos os problemas da Universidade, da formação de médicos e de pesquisadores, da educação sanitária etc.

"Saúde Pública" aborda temas que vão do perigo das radiações, às doenças decorrentes do pauperismo. São Paulo, o Nordeste Brasileiro e o Leste Asiático são conhecidos do autor. Destacam-se nessa parte do livro as resoluções aprovadas pelo Congresso Chinês de Doenças Parasitárias, reunido em Xangai em 1958, e as observações pessoais do autor sôbre as campanhas desencadeadas, pelo povo chinês, contra as grandes endemias.

Em seu conjunto a coletânea é um trabalho didático. Além de dar uma visão panorâmica de uma série de assuntos ainda não compendiados, traz para

o nosso meio informações que talvez sejam de difícil acesso. Muito útil a pesquisadores e a sanitaristas, a sua leitura aproveitaria, sobretudo, àqueles que têm responsabilidade de direção na Pesquisa e na Saúde Pública.

Mario Aragão.

BISSET, K. A. & DAVIS, G. H. G., 1960, THE MICROBIAL FLORA OF THE MOUTH. 100 pp., 25 figs., Heywood & Co. London.*

Os autores dêste livro dispensam qualquer apresentação, suficientemente conhecidos que são no âmbito dos bacteriologistas. O livro que agora publicam sôbre a Flora Microbiana da Bôca vem, primordialmente, preencher um claro na bibliografia especializada e é de grande valor para professôres e estudantes de medicina, odontologia e bacteriologia. Uma análise feita por tão abalizados Autores constitui ajuda considerável também para os diplomados que desejam atualizar-se no referente aos processos da microbiologia dentária, onde muito tem sido feito nestes últimos tempos. Como se trata de um livro com nítida indicação didática, o problema da sistemática assumiu aspecto de especial importância. A nomenclatura adotada no manual de Bergey foi seguida na maioria dos casos; entretanto, os Autores justificam algumas discordâncias como fatôres estimulantes para que os pesquisadores venham trazer suas contribuições no sentido de esclarecer melhor as discrepâncias. Os apêndices apresentados no fim de cada capítulo, nos quais os selecionados métodos de isolamento e identificação de bactérias mais comumente encontradas na bôca são apresentados, constituem contribuições valiosas para a prática bacteriológica dos estudantes. As informações mais detalhadas serão encontradas na vasta bibliografia indicada na parte de referências e no próprio texto.

Laerte de Andrade.

FROTA-PESSOA, O., 1960, BIOLOGIA NA ESCOLA SECUNDÁRIA, XIV+797 pp., 9 ests., 427 figs. Centro Brasileiro de Pesquisas Educacionais, INEP, Ministério da Educação e Cultura, Rio de Janeiro ou MANUAL DE BIOLOGIA, Editôra Fundo de Cultura, Rio de Janeiro (edição comercial à venda nas livrarias).

O problema das deficiências dos livros didáticos é um dos mais graves com que os nossos professôres de colégio se defrontam.

Os defeitos principais da maior parte dos nossos livros didáticos decorrem de não serem êles escritos por elementos que tenham prática de pesquisa. São por isso livros antiquados que mais contribuem para matar qualquer interêsse do que para ensinar. Êsse defeito é especialmente grave nos livros de História Natural. Detalhes morfológicos e anatômicos são tratados com pormenores,

* Oferta do Conselho Britânico.

enquanto fenômenos básicos de importância geral são ignorados ou tratados deficientemente. A conseqüência é que os alunos saem do colégio sem compreender fenômenos gerais como evolução, mutação, seleção natural etc... Fisiologia, ecologia, genética, em suma todos os fenômenos dinâmicos, são negligenciados em favor de um tratamento mais pormenorizado de uma morfologia de importância cultural incomparàvelmente menor ou freqüentemente nula.

Nossos estudantes de colégio se formam pensando que História Natural é decorar uma assustadora nomenclatura, cujo significado etimológico rarìssimamente é explicado e que é usada para denominar detalhes insignificantes. Por isso, nossa História Natural de colégio é uma decoração de terminologia a ser esquecida logo depois dos exames. É surpreendente que o interêsse por História Natural ainda consiga sobreviver em tanta gente depois de tanta caceteação. Nossos livros didáticos de História Natural talvez sejam úteis como ricas jazidas de fósseis terminológicos, mas nunca como obras educacionais.

Nossos professôres universitários, salvo honrosas exceções, têm mostrado relutância em escrever livros didáticos. Muitos consideram, erradamente, que a redação de livros didáticos é uma obra de natureza inferior, e por isso não querem desviar para ela tempo que possa ser usado para pesquisa, ou mesmo para política universitária. Outros não são atraídos simplesmente pela falta de estímulo financeiro.

Um bom livro didático pode despertar o interêsse científico de um número imenso de jovens que mais tarde, dedicando-se à pesquisa, poderão em conjunto produzir enorme obra científica. Um cientista que escreva um bom livro didático poderá trazer para a ciência uma contribuição total muito maior do que se ficasse sòmente trabalhando no seu laboratório .

O professor Anísio Teixeira e os outros membros do Centro Brasileiro de Pesquisas Educacionais, conscientes da necessidade e da importância de livros didáticos, estão realizando obra de imensa importância cultural publicando livros de texto escritos por autoridades escolhidas pelo seu valor científico e pelos seus méritos didáticos. Tais livros são distribuídos grátis aos professôres e aos colégios. A iniciativa do Prof. Anísio Teixeira e de seus colaboradores trará os maiores benefícios à instrução em nosso país e deixo aqui os meus votos para que possam continuar por muito tempo a grande obra tão auspiciosamente iniciada.

Na escolha do Prof. Oswaldo Frota-Pessoa, para escrever o volume dedicado à Biologia, os membros do Centro Brasileiro de Pesquisas Educacionais foram particularmente felizes. O Prof. Frota-Pessoa não só é um pesquisador de grandes méritos em genética mas é também autoridade em métodos educacionais em ciências, e um expositor de grande clareza e elegância.

O livro do Prof. Frota-Pessoa é exatamente o que dêle se esperava, vivo, moderno, completo, preciso, equilibrado, de leitura agradável e ilustração excelente. Aspectos dos mais interessantes é a ênfase dada, no texto assim como nas ilustrações, à natureza brasileira e às pesquisas aqui realizadas.

O livro é primoroso. Alguns erros escaparam ao autor, mas a sua superioridade sôbre os outros livros de texto existentes é tão grande que qualquer crítica seria sòmente demonstração de pedantismo.

A única cousa a lamentar é que, devido a dificuldades inevitáveis, o preço relativamente elevado da edição comercial venha impedir que sua divulgação seja tão grande quanto se deve desejar.

O Prof. O. Frota-Pessoa e o Centro Brasileiro de Pesquisas Educacionais estão de parabens como responsáveis pelo magnífico livro, assim como a Editôra Fundo de Cultura que publicou a edição comercial. Recomendo-o sinceramente a todos os biologistas, a todos aquêles que queiram compreender a natureza e a todos os alunos de colégio e de universidades que desejem adquirir uma boa base em Biologia e saber o que essa ciência realmente é.

A. Brito da Cunha.

LLIBOUTRY, L., 1960, PHYSIQUE DE BASE POUR BIOLOGISTES, MÉDECINS, GÉOLOGUES. XV+368 pp., 279 figs., Masson & Cie., Paris.*

Êste é um livro bem apresentado e bem feito para a finalidade que tem em vista. Começa com noções elementares sôbre funções e vetores passando a um resumo de mecânica e complementos de eletricidade para expôr a física molecular, noções de termodinâmica, ondas e radiações e um pouco de física nuclear. A exposição é clara e simples, acompanhada de muitas ilustrações. Sobretudo, ao fim de cada capítulo encontram-se exercícios, com as soluções colecionadas ao fim do volume. Poder-se-á talvez lamentar que certos capítulos, como o da física molecular, ou o das idéias fundamentais da física quântica, não tenham tido uma extensão maior, dada a grande importância de tais questões para a Biologia moderna. Assim o item sôbre as fôrças moleculares de Van der Waals poderia ter tido um tratamento mais generoso em extensão, permitindo, em seguida, uma explicação intuitiva dos processos de solução, de suspensão coloidal bem como a estrutura semi-cristalina, em cacho, da água (líquida), embora seja mencionada a associação das moléculas. Mas as omissões são compreensíveis, pois êste é um livro de física básica, elementar e seria, talvez, difícil extendê-lo em alguns capítulos sem quebrar-lhe o que possue de mais atraente e recomendável: um apanhado bem feito, bem ilustrado e claro de ramos da física básicos para médicos, biologistas e geólogos. Merece, certamente, difusão em nosso meio universitário correspondente.

J. Leite Lopes.

* Oferta dos Editôres Masson & Cie.